

SÉRIE A, N° 1766

N° D'ORDRE :

2632

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JULIENNE PAYEN

Professeur à l'Ecole Normale d'Institutrices de la Seine

**1^{re} THÈSE. — Recherches biochimiques sur quelques
Cyanophycées.**

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenue le Janvier 1938 devant la Commission d'examen.

- 4 JAN. 1938

MM. R. COMBES, *Président.*

L. PLANTEFOL }
G. MANGENOT } *Examineurs.*

ROUEN. — IMPRIMERIE WOLF

13-15, rue de la Pie

1937

SÉRIE A, N° 1766

N° D'ORDRE :

2632

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JULIENNE PAYEN

Professeur à l'Ecole Normale d'Institutrices de la Seine

1^{re} THÈSE. — Recherches biochimiques sur quelques
Cyanophycées.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenue le Janvier 1938 devant la Commission d'examen.

— 4 JAN. 1938

MM. R. COMBES, *Président*.

L. PLANTEFOL }
G. MANGENOT } *Examineurs.*

ROUEN. — IMPRIMERIE WOLF

13-15, rue de la Pie

—
1937

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire.... M. MOLLIARD.

Doyen C. MAURAIN, Professeur, Physique du Globe.

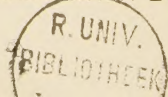
Professeurs honoraires	{	H. LEBESGUE.	PÉCHARD.	MARCHIS.
		A. FERNBACH.	FREUNDLER.	VESSIOT.
		Emile PICARD.	AUGER.	PORTIER.
		Rémy PERRIER.	BLAISE.	MOLLIARD.
		Léon BRILLOUIN.	DANGEARD.	LAPICQUE.
		GUILLET.	LESPIEAU.	

PROFESSEURS

G. BERTRAND... T	Chimie biologique.	ROBERT-LÉVY .. T	Physiologie comparée.
M. CAULLERY... T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
G. URBAIN..... T	Chimie générale.	Henri VILLAT... T	Mécanique des fluides et applications.
Emile BOREL.... T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	Ch. JACOB..... T	Géologie.
Jean PERRIN... T	Chimie physique.	P. PASCAL..... T	Chimie minérale.
H. ABRAHAM... T	Physique.	M. FRÉCHET... T	Calcul différentiel et Calcul intégral.
E. CARTAN..... T	Géométrie supérieure.	E. ESCLANGON... T	Astronomie.
A. COTTON..... T	Recherches physiques.	M ^{me} RAMART-LUCAS T	Chimie organique.
J. DRACH..... T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	H. BÉGHIN..... T	Mécanique physique et expérimentale.
Charles FABRY... T	Enseignement de Physique.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles PÉREZ... T	Zoologie.	PAUTHENIER ...	Physique (P.C.B.).
Léon BERTRAND. T	Géologie structurale et géologie appliquée.	De BROGLIE ... T	Théories physiques.
E. RABAUD..... T	Biologie expérimentale.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
M. GUICHARD... T	Chimie minérale.	P. JOB	Chimie générale.
Paul MONTEL... T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	LABROUSTE	Physique du Globe.
P. WINTREBERT. T	Anatomie et histologie comparées.	PRENANT	Zoologie.
L. BLARINGHEM. T	Botanique.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
O. DUBOSCQ... T	Biologie maritime.	BOHN	Zoologie (P.C.B.).
G. JULIA..... T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	COMBES	Physiologie végétale.
C. MAUGUIN... T	Minéralogie.	GARNIER	Mathématiques générales.
A. MICHEL-LÉVY T	Pétrographie.	PÉRÈS	Mécanique théorique des fluides.
H. BÉNARD..... T	Mécanique expérimentale des fluides.	HACKSPILL	Chimie (P.C.B.).
A. DENJOY..... T	Application de l'analyse à la Géométrie.	LAUGIER	Physiologie générale.
L. LUTAUD..... T	Géographie physique et géologie dynamique.	TOUSSAINT	Technique aéronautique.
Eugène BLOCH... T	Physique théorique et physique céleste.	M. CURIE.....	Physique (P.C.B.).
G. BRUHAT	Physique.	G. RIBAUD	Hautes températures.
E. DARMOIS....	Enseignement de Physique.	CHAZY	Mécanique rationnelle.
A. DEBIERNE... T	Physique générale et Radioactivité.	GAULT	Chimie (P.C.B.).
A. DUFOUR..... T	Physique (P.C.B.).	CROZE	Recherches physiques.
L. DUNOYER... T	Optique appliquée.	DUPONT	Théories chimiques.
A. GUILLIERMOND. T	Botanique.	LANQUINE	Géologie.
M. JAVILLIER... T	Chimie biologique.	VALIRON	Mathématiques générales.
L. JOLEAUD.... T	Paléontologie.	BARRABÉ	Géologie structurale et Géologie appliquée.
		MILLOT	Zoologie (P.C.B.).
		F. PERRIN	Théories physiques.
		VAVON	Chimie organique.
		G. DARMOIS....	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire .. D. TOMBECK.



Recherches biochimiques sur quelques Cyanophycées

Par Julienne PAYEN

INTRODUCTION

I. — HISTORIQUE

Les Cyanophycées, souvent appelées algues bleues, furent longtemps ignorées, délaissées des botanistes qu'attiraient davantage les formes brillantes des algues rouges, vertes ou brunes.

Le public n'en connaît guère que les manifestations curieuses, qui provoquent son étonnement.

C'est l'épanouissement soudain du *Nostoc commune* Vauch qui, après une pluie, s'étale en larges plaques glissantes sur les sentiers calcaires, sur les routes recouvertes de graviers.

C'est, au bord de la mer, l'apparition de *Rivularia bullata* Poirét surgissant du rocher comme des milliers de petites bulles vert pâle au milieu de l'écume et qui, après avoir scintillé au soleil, semblent fondre et se retirer au fond des minuscules anfractuosités du granit.

C'est le développement extraordinairement rapide de l'*Aphanizomenon flos aquæ* (L.) Ralfs, qui produit à la surface des étangs le phénomène connu sous le nom de fleur d'eau, ou celui des *Trichodesmium* Ehrenberg, qui colore parfois en rouge certaines mers tropicales (1).

(1) Lettre de EVENOR DUPONT à I. GEOFFROY SAINT-HILAIRE. *Bulletin de la Société Française de Microscopie*, vol. III, n° 3, 1934.

GOMONT (37), parlant du *Microcoleus chthonoplastes*, décrit : « Il joue un rôle utile dans l'exploitation des marais salants, en recouvrant le fond des bassins ou œillets d'un tapis compact, qui permet d'enlever les cristaux de sel sans mélange de vase. En cet état, il forme des assises diversement colorées, accumulées sur une épaisseur parfois considérable, et dont les supérieures, qui sont les seules vivantes, peuvent être détachées par larges plaques et roulées comme des morceaux de drap : ce végétal mérite complètement le nom de chthonoplaste (constructeur de sol), qui lui a été donné par les premiers observateurs. »

C'est aussi la possibilité, pour certaines de ces plantes, de se développer parfaitement dans les eaux thermales à plus de 70° (A. FAMIN, 30).

Le bulletin de la Société de Dax suggère que certaines vertus thérapeutiques des eaux de la région pourraient provenir de ces algues.

Les Cyanophycées constituent, au point de vue biochimique, un sujet entièrement nouveau. Au cours des diverses études effectuées sur la morphologie de ces plantes, quelques auteurs ont émis des hypothèses sur les constituants du cytoplasme : ces observations, faites à l'aide de colorants, sont de nature microchimique, et n'ont pas été suivies de recherches de quelque ampleur.

En 1899, CLAUTRIAU (15) signalait les difficultés de l'étude chimique :

« Quoique les Cyanophycées contiennent le plus souvent une chlorophylle bleu verdâtre, on ne constate pas, chez elles, d'amidon... L'étude de leurs réserves ternaires est peu avancée, elle présente d'ailleurs de grosses difficultés et exige un matériel d'étude abondant. De plus, les dimensions réduites de ces organismes ne permettent pas de les broyer, de les dessécher facilement, afin de pouvoir en extraire avec certitude ces substances hydrocarbonées qui, à cause de leur nature colloïdale, ne peuvent diffuser au travers des membranes et exigent pour leur extraction que les cellules soient ouvertes... »

En 1906, ERRERA (29) annonce, dans *Oscillatoria formosa* Bory, la présence du glycogène, en s'appuyant sur la coloration du cytoplasme par l'iode :

« Le glycogène ne se rencontre dans aucun des végétaux supérieurs : parmi les plantes vertes, n'existe que dans les Cyanophycées ; il est localisé dans la zone corticale verte correspondant au cytoplasme, variété de glycogène qui ne disparaît qu'après chauffage à température élevée... »

D'autre part, des recherches ont été faites sur des granulations assimilées à des *cristalloïdes protéiques*.

« On a signalé, dans les Cyanophycées, des granulations très réfringentes, de formes un peu anguleuses, de dimensions variées, parfois très nombreuses, qui, dans beaucoup d'espèces, se trouvent presque exclusivement localisées entre les parois transversales des cellules, mais, dans d'autres, se rencontrent aussi sur les faces latérales. » (A. GUILLIERMOND, G. MANGENOT, L. PLANTEFOL (36)).

Ces granulations ont été décrites sous des noms divers : Boules gélatineuses (ZIMMERMANN), grains de réserve (NADSON), cristalloïdes de protéines (HEGLER), grains de cyanophycine (ZACHARIAS, BORZI, HIÉRONYMOUS, KOHL, FISCHER, GUILLIERMOND).

Elles ont été diversement interprétées : il semble, d'après les méthodes utilisées par DIETRICH (24), qu'elles soient de nature lipoprotéique.

On sait, en outre, que ces algues élaborent une substance mucilagineuse, qui constitue une gaine parfois épaisse autour du trichome.

A la suite de recherches exclusivement microchimiques, GOMONT (37), puis LEMAIRE (42) ont émis cette opinion que les gaines de Cyanophycées ont une constitution très variable.

Les unes seraient formées d'une substance se rapprochant des matières pectiques (*Glæotrichia natans*, *Microcoleus paludosus*).

Les autres seraient constituées par un produit complexe, la *Schizophycose*, qui semblerait due à la « combinaison d'un composé acide jouant le même rôle que l'acide pectique, avec une autre substance organique à réaction basique » (*Stigonema ocellatum*, *Scytonema myochrous*).

Enfin, quelques autres posséderaient de la schizophycose et de la cellulose, cette dernière insoluble dans la liqueur de Schweitzer (*Tolypothrix lanata*, *Scytonema cinnatum*).

Quelle est la nature précise de cette gomme ? On l'ignore. Y a-t-il dans les cellules des composés glucidiques ? On n'a retiré jusqu'alors ni alcool polyatomique, ni sucre, ni amidon (1).

L'objet de ce travail est de rechercher quelques-uns des constituants des Cyanophycées et d'essayer de se rendre compte s'il existe, dans ce groupe d'algues, une certaine homogénéité de composition.

(1) Un travail de B. TURNER sur *Oscillatoria prolifera* a paru en 1916. L'auteur suppose la présence d'un glucoside sans en préciser la nature. Il indique que la gomme extraite se transforme par les acides (67).

II. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES CYANOPHYCÉES

1. DONNÉES MORPHOLOGIQUES

La morphologie et la cytologie de ces algues ne sont bien connues que depuis les travaux de THURET (64), BORNET (9), FLAHAULT (31), GOMONT (37), les recherches plus récentes de GUILLIERMOND (35), GEITLER (33), P. DANGEARD (22), les études précises de P. FRÉMY (32).

Il faut lire les descriptions de ces grands maîtres de l'algologie pour voir avec quel enthousiasme ils ont admiré les formes élégantes que révèle le microscope. Le lecteur trouvera dans ces ouvrages, et en particulier dans le traité d'algologie de P. DANGEARD, et le traité de cytologie de GUILLIERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL, tout ce que l'on sait de l'organisation de ces plantes; il se rendra compte de la difficulté de ces études dont témoignent les nombreuses controverses qu'elles soulèvent.

En 1906, l'obscurité la plus grande régnait encore sur ce sujet.

Désignées d'abord sous le nom de *Myxophycées*, qui veut dire algues mucilagineuses (STIZENBERGER), puis sous celui de *Phycochromophycées* (RABENHORST), ensuite groupées avec les bactéries, *Protophytes*, les algues bleues constituent maintenant le groupe inférieur de la grande famille des algues.

Elles sont unicellulaires ou pluricellulaires, les cellules étant alors disposées en files. La cellule comprend un cytoplasme pariétal avec pigments diffus : aucun plaste nettement différencié, la chlorophylle qui imprègne le protoplasme y est associée à de la phycocyanine et parfois à de la phycoérythrine.

Au centre, un noyau rudimentaire, sans membrane, et réduit à un peloton chromatique; la membrane présente une partie externe qui, le plus souvent, se gélifie, donnant alors une gaine gélatineuse autour du thalle; membrane cellulaire et gaine ont été étudiées avec précision par GOMONT (37) et LEMAIRE (42).

2. REPRODUCTION

Les auteurs s'accordent à reconnaître que les Cyanophycées n'ont pas de reproduction sexuée. Elles se multiplient végétativement par hormogonies, c'est-à-dire par fragments de trichome qui s'échappent de la gaine et sont capables de se mouvoir activement, par conidies, c'est-à-dire par cellules isolées se formant à l'intérieur d'un sporange, par endospores, exospores ou par spores durables. Ces der-

CHROOCOCCALES.

Pas d'organes reproducteurs différenciés. Multipl. par division.

CHROOCOCCACEÆ.

Cellules isolées, colonies non linéaires.

ENTOPHYSALIDACEÆ.

Colonies linéaires.

Algues
non filamenteuses
ou peu filamenteuses.
(Filaments confluent).

CHAMCESIPHONALES.

Organes de propagation différenciés, spores.

PLEUROCAPSACEÆ.

Pluricellulaires.

Multiplications végétatives, endospores.

DERMOCARPACEÆ.

Unicellulaires.

Sans multiplications végétatives, endospores.

CHAMCESIPHONACEÆ.

Unicellulaires.

Sans multiplications végétatives, exospores.

HORMOGONEALES.

Pluricellulaires.

Accroissement par hormogonies.
Cellules en files (trichomes).

Algues
nettement filamenteuses.
(Filam^{ts} indépend).

ANHOMOCYSTEÆ.

Trichomes formés d'articles dissimilaires, présence d'hétérocystes, reproduction parfois par spores.

HOMOCYSTEÆ.

Trichomes formés d'articles semblables.

Aphanotece stagnina.

Entophysalis.

Oncobrysa rivularis Kütz.

Dermocarpa.

Chamaesiphon.

Oscillatoriacæ.

Trichomes formés d'une seule série d'articles tous à peu près semblables.

Microcoleus chthonoplastes Thuret.
Symploca hydnoides Kütz.
Lyngbya majuscula Harvey.
Phormidium Kütz.
Trichodesmium Ehrenberg.
Oscillatoria formosa Bory.

Rivulariacæ.

Trichomes transformés en poils à une extrémité, hormogonies.

Calothrix pulvinata Ag.
Rivularia bullata Poir.

Scytonematacæ.

Trichome engainé, peu atténué à l'extrémité, hormogonies, spores rares.

Tolypothrix Kütz.
Scytonema Ag.

Nostocacæ.

Filaments simples, trichomes non atténués, hormogonies, spores.

Anabaena Bory.
Nostoc commune Vaucher.
Aphanizomenon Morren.

Stigonematacæ.

Filaments rameux, hormogonies, spores.

Stigonema Ag.
Mastigocoleus Lagerh.

nières sont formées de cellules végétatives dont la membrane s'est épaissie et dont le contenu s'est enrichi de substances de réserve.

3. CLASSIFICATION

Parmi les classifications proposées pour les Cyanophycées, celle qui a été adoptée dans ce travail est due à THURET, BORNET, GOMONT. Le tableau ci-joint a pour but de situer avec précision les genres et les espèces indiqués dans le développement.

4. ASPECT, HABITAT

Les Cyanophycées ont des aspects très divers : tapis, plaques, touffes ou individus isolés; leur teinte varie du bleu foncé au brun noir, et quelquefois du violet pourpre au rouge vif.

Les formes terrestres apparaissent sur le sol, sur les troncs des arbres, sur les murs humides (*Nostoc*, *Scytonema*), elles peuvent supporter le soleil, l'ombre, et des périodes de grande sécheresse grâce à une épaisse gaine gélatineuse, ou à des cellules exceptionnellement résistantes; l'algue pulvérisée, le trichome n'est pas mortifié, comme on peut le voir sur *Phormidium*.

Les formes aquatiques s'accommodent de tous les milieux et se développent à des profondeurs variées : eaux pures riches en oxygène, eaux salines, eaux saumâtres, eaux souillées, alcalines, acides. On les rencontre dans les ruisseaux au cours rapide (*Chamaesiphonales*, *Oscillatoriacées*), où elles forment, sur le fond, une croûte bosselée (*Nostoc verrucosum* Vaucher) ou des touffes de filaments flottants (*Tolypothrix distorta*, var. *penicillata*), dans les cours d'eau lents, dans les eaux stagnantes, où elles se fixent sur les plantes ou flottent à la surface, dans les lacs, où elles peuvent vivre à de grandes profondeurs (*Oscillatoria profunda* à 75 mètres de fond, dans le lac de Constante), dans la mer, où certaines constituent une zone nette sur les rochers battus des marées (D^r A. ERCEGOVIC, 28) tandis que d'autres se rencontrent à plus de 10 mètres de la surface.

Quelques espèces habitent les eaux thermales à température élevée, ou les eaux glacées des lacs de montagne. Certaines sont épiphytes et vivent à la surface d'autres algues ou dans la gaine gélatineuse, sans occasionner de dommage (*Microcoleus Vouki* Frémy, dans *Codium bursa*; *Oncobyrsa rivularis*, sur *Cladophora alpina*). La plus curieuse est *Cyanoderma*, qui vit dans le pelage des mammifères du groupe des Paresseux.

D'autres sont nettement parasites : les plus connues sont les

Anabæna, qui vivent dans les feuilles d'*Azolla*, et les *Nostoc sphaericum*, qui se développent dans les Hépatiques.

A ce propos, il est intéressant de rapporter l'observation suivante, faite dans les feuilles de *Gunnera* :

« L'amidon disparaît partout où se trouvent les filaments de l'algue, les membranes cellulaires, qui sont en contact avec eux, cessent de présenter la réaction au chloroiodure de zinc... Le *Nostoc* vit aux dépens de son hôte, il lui enlève l'amidon et dissout sa cellulose... »

Quelques espèces perforantes se rencontrent dans les roches calcaires, qu'elles carient, contribuant ainsi à l'effritement des masses pierreuses (D^r ANTE ERCEGOVIC, 28).

III. — RÉCOLTE DU MATÉRIEL

Ces algues constituent un matériel ingrat : la recherche, en vue d'une étude anatomique, est parfois difficile, mais la récolte massive, en vue de recherches biochimiques, offre des obstacles souvent insurmontables.

Certaines espèces ont une taille par trop exigüe, d'autres n'ont qu'une vie fugitive. L'accès des régions où l'on peut les récolter est souvent malaisé (marais, champ de boue).

Une analyse chimique exige une quantité importante de substance analysable, et, par conséquent, une abondante récolte, surtout si les algues — et les Cyanophycées sont dans ce cas — renferment plus de 90 % d'eau ; on ne peut donc s'adresser qu'aux espèces dont la taille est suffisamment grande, qui se groupent en paquets, en plaques, ou qui élaborent des substances qui, gorgées d'eau, en augmentent le volume.

D'autre part, seront seules utilisables les espèces dont le nettoyage est possible.

Les espèces qu'on a pu récolter en vue du présent travail sont les suivantes :

- Rivularia bullata.*
- Calothrix pulvinata.*
- Symploca hydnoïdes.*
- Scytonema tolypotrichoides.*
- Nostoc commune.*
- Aphanotece stagnina.*

1^o RÉCOLTE DE *RIVULARIA BULLATA*

En août 1932, accueillie aimablement au laboratoire maritime de Saint-Servan, j'ai commencé les récoltes sur les rochers de Saint-Malo (Fort National, Grand Bé). Les algues étaient apparues fin juillet. D'abord à peine visibles aux creux des rochers entre les tests des Balanes, elles grossissent assez vite, et l'on peut les récolter lorsque la substance mucilagineuse qu'elles contiennent est gonflée d'eau. Elles constituent de petites plaques mamelonnées vert bleu, que l'on peut arracher à condition de ne pas attendre la dessiccation; en effet, quelques heures après le départ de l'eau, l'algue se dessèche et devient une fine pellicule vert noir, très adhérente au rocher. Ces algues, situées dans la région modérément battue, où elles constituent une zone nette au-dessus de *Fucus vesiculosus* L. DE BEAUCHAMP (5), DAVY DE VIRVILLE (23), disparaissent en septembre avec les marées d'équinoxe.

Cette première récolte fut peu abondante : les échantillons étaient disséminés, difficiles à détacher et à débarrasser des débris de Balanes. Une visite faite en octobre a montré l'absence totale de rivulaires.

L'année 1933 fut meilleure, les algues plus abondantes et mieux développées rendaient le travail plus facile. Grâce à la grande complaisance de M. MANGIN, Directeur du laboratoire de Saint-Servan, qui a mis à ma disposition le canot automobile du laboratoire, j'ai pu explorer le rocher du Homet, isolé au large de Saint-Malo. Les rivulaires y recouvrent certaines roches d'un splendide tapis vert pâle.

Un travail acharné pendant de longues heures m'a permis de rapporter environ 2 kilogrammes d'algues (poids frais).

Ces récoltes furent complétées à l'île de Cézembre, d'accès plus facile.

Les rivulaires recueillies en 1935 ont servi à des vérifications (teneur en H²O, poids sec), qui ont pu être effectuées au laboratoire de Dinard, grâce à l'hospitalité offerte par M. GRUVEL, Directeur, et M. FISCHER, Sous-Directeur.

Il semble bien que ces rivulaires subissent certaines influences qui retardent parfois leur apparition de plus de 15 jours, et qui même déterminent leur disparition dans des stations où on les avait observées en quantité l'année précédente (observations faites par M. COLIN au Croisic).

2° RÉCOLTE DE *CALOTHRIX PULVINATA*

Elle fut effectuée en 1932, aux îles Chausey. L'éminent algologue et spécialiste des Cyanophycées, M. P. FRÉMY, a bien voulu, non seulement me conseiller, mais me diriger et m'accompagner dans cette excursion.

Les *Calothrix* se trouvent en un endroit très limité, situé en avant des « Roches aux Moines », dans l'île principale. Ces roches plongent partiellement dans un champ de boue grise, épaisse, gluante.

Le cheminement désagréable et pénible ne peut se faire que lorsqu'une certaine dessiccation a rendu le sol moins glissant.

Les algues, le plus souvent émergées, apparaissent en plaques grises, qui se détachent facilement et pendent parfois le long du rocher.

Des recherches effectuées pendant plusieurs jours, sur les îlots voisins, n'ont pas révélé d'autres stations de *Calothrix*; par contre, j'ai pu récolter une petite quantité de *Symploca*, qui se développent au niveau de l'eau sous forme de petits paquets de mèches jaunâtres.

Aux difficultés de la récolte se sont ajoutées celles de la fixation. L'île ne possède aucune installation susceptible de faciliter le travail, et le retour à Saint-Servan devant se faire en passant par Granville, les algues sont restées deux jours sous alcool fort, mais sans subir le traitement qui garantit l'arrêt de toute transformation.

En 1933, l'excursion fut enrayée par suite du mauvais temps.

En 1934, une deuxième récolte fut effectuée au même endroit et fixée dans la même journée.

3° RÉCOLTE D'*APHANOTECE STAGNINA*

La récolte eut lieu en 1933 dans les étangs de Biville, qui se trouvaient au milieu d'une lande de sable absolument déserte, à plusieurs kilomètres de Cherbourg.

A cette époque, une partie seulement de l'étang était envahie par les herbes, et les boules vertes gélatineuses de *Aphanotèces* flottaient à la surface.

La récolte fut facile, sinon agréable, l'étang étant peuplé de nombreuses sangsues. Malheureusement, ces algues volumineuses (1 cm. 1/2 de diamètre, gorgées d'eau, ne contiennent qu'une proportion infiniment petite de substance analysable (0,5 %).

L'année suivante, à la suite d'une forte sécheresse, les étangs avaient disparu.

J'ai tenté de compléter la récolte en utilisant les Aphanotèces qui se développent dans un des bassins du Jardin des Plantes, mais l'espèce n'est pas pure : les diatomées, les oscillaires sont si nombreuses que le nettoyage devient impossible.

4° RÉCOLTE DE *SCYTONEMA TOLYPOTRICHOIDES*, *PHORMIDIUM*,
NOSTOC COMMUNE

Les *Scytonema* furent recueillis dans les étangs de Lessay (région de Saint-Lô), grâce à l'aimable complaisance de M. FRÉMY, qui, par la suite, a bien voulu compléter la récolte.

Les *Phormidium* proviennent des serres chaudes du Jardin des Plantes. Ces algues, qui tapissent la base rugueuse et humide des murs d'un fin gazon vert bleu, m'ont été signalées et ont été recueillies par M. MANGUIN, qui voudra bien accepter ici tous mes remerciements.

La très petite quantité obtenue doit être augmentée pour qu'une analyse soit tentée.

Les *Nostoc* sont, de toutes les algues étudiées, celles dont la récolte se fait avec le plus de facilité : quelques régions privilégiées en ont en abondance.

Les échantillons utilisés dans ce travail proviennent, d'une part, des recherches effectuées dans les Vosges et les Ardennes par M. COLIN et M. DE CUGNAC (je les en remercie vivement), d'autre part de belles récoltes que j'ai faites dans la Charente et à Saint-Cergues (Jura Suisse).

Je remercie M. le Professeur H. COLIN, Membre de l'Institut, de m'avoir suggéré le sujet de ce travail. C'est dans son laboratoire que j'en ai réalisé la partie chimique.

Ma reconnaissance va à M. l'Abbé FRÉMY, Professeur à l'Institut libre de Saint-Lô, qui, avec la plus grande complaisance, a mis à ma disposition, non seulement son inappréciable savoir, mais son temps des plus précieux, et à M. le Professeur GAUDEFROY, pour les études cristallographiques qu'il a bien voulu faire pour moi.

Je salue la mémoire de M. le Professeur MANGIN, qui m'a accueillie à son laboratoire de Saint-Servan; je prie M. le Professeur GRUVEL, Directeur du Laboratoire maritime de Dinard, et M. FISCHER-PIETTE d'agréer l'expression de mes remerciements pour l'hospitalité qu'ils ont bien voulu m'offrir.

Ma gratitude va à M. le Professeur ALLORGE, Directeur du

Laboratoire de Cryptogamie, et à M. LAMI, Assistant au Muséum, pour le bon accueil qu'ils m'ont réservé.

Merci à M. FELDMANN pour l'aide toute spontanée qu'il m'a offerte, et aux compagnons de Laboratoire, qui ont essayé de me rendre la tâche plus facile.

Je ne saurais oublier M. le Professeur C. GRAVIER, Membre de l'Institut, qui voudra bien accepter ici l'expression de ma reconnaissance pour l'intérêt qu'il m'a toujours témoigné.

Je prie M. le Professeur R. COMBES d'agréer mes sentiments de respectueuse gratitude pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'examiner ce travail et de présider cette thèse.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE

DE

RIVULARIA BULLATA (POIRET) BERKELEY

Généralités

Le genre *Rivularia* appartient au groupe des Hormogonéales, famille des Rivulariacées; il compte sur nos côtes plusieurs espèces, que l'on peut récolter en plus ou moins grande quantité. Parmi ces espèces, une récolte de *Rivularia atra* Roth fut trop peu importante pour qu'une analyse fut tentée; seule, *Rivularia bullata* a pu fournir un matériel suffisant.

Rivularia bullata se rencontre de juillet à septembre, comme il a été dit précédemment, sur les rochers, dans la zone de balancement des marées, au niveau des Chtamales (*Chtamalus stellatus*).

Immergées, ces algues apparaissent vert clair; découvertes, mais encore humides, elles montrent leurs thalles gélatineux, globuleux, leurs masses vésiculeuses, mamelonnées, trémelloïdes, distendues parfois par le gaz qui s'accumule dans les cavités. Sèches, leur teinte vert clair s'assombrit et la masse se réduit à une petite pellicule adhérente.

THURET (64) décrit ainsi le développement du thalle de *Rivularia bullata* :

« Quand on commence à l'apercevoir aisément, il forme de petits tubercules arrondis... ces tubercules pleins deviennent creux de très bonne heure, lorsqu'ils n'ont guère que 2 millimètres de diamètre.

« Les filaments qui le composent s'étendent d'abord sans interruption du point d'attache à la périphérie. Mais bientôt, à mesure qu'ils s'accroissent et se multiplient à la circonférence, leur base se détruit, une cavité se forme et c'est ainsi que naissent ces vésicules bosselées dont le volume va sans cesse en augmentant... »

Les filaments qui composent le thalle sont agglutinés par une substance gélatineuse qui, en se développant, lui donne une consistance plus molle; cependant les filaments ne se séparent pas par pression.

Chaque filament est formé :

1° D'une file de cellules, le *trichome*. La cellule basale, très apparente, renflée, à membrane épaisse, à contenu incolore, constitue l'*hétérocyste*. Les cellules du filament ont des dimensions qui varient progressivement. Les cellules inférieures sont, au contraire, toujours plus longues que larges; les médianes étant beaucoup plus courtes, c'est à quelque distance du sommet que le trichome a sa plus grande épaisseur.

« C'est dans cette région que la division des cellules a le plus d'activité et que se font la coupure et la régénération du trichome, d'où résulte la ramification des filaments de la rivulaire » (THURET).

Les cellules terminales sont longues, étroites, et la dernière s'effile en un *long poil* hyalin.

2° D'une *gaine* peu apparente, qui, vers le haut du filament, se dilate parfois en entonnoir.

La reproduction se fait par cloisonnement actif des cellules : des portions de trichomes se détachent (hormogonies) et s'entourent d'une nouvelle gaine. THURET en donne la description suivante :

« Les cellules qui portent le poil grossissent et deviennent semblables aux autres, le trichome devient toruleux, ses articles se remplissent de gros granules; de distance en distance, un étranglement, un anneau transversal légèrement saillant ou une simple ligne plus foncée indiquent la place où se fera la séparation.

« La transformation marche de la périphérie vers le centre, et se continue jusqu'à ce que toute la partie supérieure des filaments avec tous leurs ramules se résolve en hormogonies.

« En même temps, la gelée se ramollit et se dissout; les hormogonies supérieures s'échappent de la gaine très délicate qui enveloppe les trichomes, les inférieures se détachent avec la portion de la gaine où elles étaient enfermées. Devenues libres, elles ont un mouvement de reptation. Après s'être fixées, elles s'entourent d'une enveloppe mucilagineuse et commencent à croître. »

Dans ce genre, les spores sont inconnues.

Les rivulaires recueillies ne sont mélangées d'aucune algue, mais un nettoyage minutieux est nécessaire pour les débarrasser des débris de tests de chitamales et de quelques épiphytes animaux.

CHAPITRE I

QUELQUES DONNÉES SUR LA COMPOSITION MINÉRALE

I. — TENEUR EN EAU

Les algues nettoyées avec soin et essorées dans un linge sont étalées pendant quelques heures au laboratoire dans une salle aérée située au bord de la mer. Une certaine stabilisation de poids s'établit, et on admet qu'à cet état on obtient le poids frais.

Un poids frais de 39 gr. 3 perd peu à peu de sa masse lorsqu'on soumet les algues à la dessiccation d'abord dans un dessiccateur, puis à l'étuve 110°.

Le poids se stabilise à 3 gr. 4.

La teneur en eau est donc de 92 %. Cette proportion d'eau est variable, les différentes expériences ont donné des chiffres allant de 89 à 95 %, soit de 11 à 5 % de substance sèche.

II. — ETUDE DES CENDRES

1° *Quantité de cendres.*

Une première incinération effectuée sur des algues nettoyées avec soin, mais n'ayant subi aucun lavage, a donné 48 % de cendres, dont 80 % sont représentés par des cendres solubles.

2 gr. 615 algues séchées à 110° fournissent :

0 gr. 994 cendres solubles

0 gr. 261 cendres insolubles

1 gr. 255 cendres totales

soit 48 % de l'algue sèche.

Les algues récoltées alors que la gomme qu'elles contiennent est gorgée d'eau, retiennent les sels de l'eau de mer.

Un simple passage à l'eau douce suffit à abaisser la teneur en cendres à 43 % du poids de l'algue sèche.

Poids sec 110°	Cendres	Teneur pour 100 gr.
0 gr. 750	0,322	43
2 gr. 574	1,107	43
1 gr. 723	0,714	42

Dans 0 gr. 714 de ces cendres, on trouve :

0 gr. 523 cendres solubles (73 % des cendres).

0 gr. 191 cendres insolubles.

Pour éliminer la plus grande partie de ceux-ci, on soumet les algues à un lavage très rapide à l'eau douce. Il ne semble pas que ce traitement modifie la composition de l'algue : l'eau de lavage analysée ne contient que des chlorures, la proportion des cendres insolubles ne varie pas.

Les algues lavées, séchées à l'étuve à 110°, sont broyées et incinérées doucement. La faible quantité de substance sèche employée permet d'obtenir rapidement, sans dépasser le rouge sombre, des cendres pulvérulentes exemptes de carbone.

Dès que tout le charbon est brûlé, on lave les cendres à l'eau bouillante jusqu'à réaction négative avec $\text{NO}^3 \text{Ag}$., on filtre sur filtre sans cendre.

Ces eaux de lavage, évaporées puis calcinées doucement, donnent la masse des cendres solubles.

Le résidu insoluble dans l'eau et le filtre sont calcinés à nouveau.

2 gr. 117 d'algues séchées à 110° :

0 gr. 379 cendres solubles, soit 61 % du poids des cendres.

0 gr. 242 cendres insolubles.

0 gr. 621 soit 30 % du poids de l'algue séchée à 110°.

Le traitement à l'eau douce a débarrassé l'algue d'une partie des chlorures qui étaient déposés à la surface ou imprégnaient la gomme (1).

(1) Ce traitement, utilisé pour une petite quantité, ne peut être employé pour une récolte abondante, dont on doit étudier les glucides.

Le lavage est long; les récoltes s'effectuant au mois d'août, ne peuvent être maintenues que difficilement à une assez basse température, qui évite toute fermentation. La fixation à l'alcool doit se faire aussi vite que possible, il en résulte que les algues utilisées contenaient force chlorures.

La teneur en cendres insolubles, dans 100 gr. d'algues séchées à 110°, ne varie pas.

Algues à 110°	Cendres insolubles	Teneur %
2,615	0,261	10
1,723	0,191	11
2,117	0,242	11,3

2° Alcalinité des cendres.

On dose l'alcalinité soluble sur l'eau de lavage des cendres obtenues par incinération modérée, puis par incinération au rouge franc.

Pour 0 gr. 621 de cendres (le virage étant effectué en présence de méthylorange), l'alcalinité soluble correspond à :

$$0 \text{ cm}^3 73 \text{ de } \text{SO}^4\text{H}^2 \frac{N}{10}$$

L'alcalinité insoluble dans l'eau est obtenue en traitant le résidu de cendres, après séparation de la partie soluble, par 30 cm³ SO⁴H² $\frac{N}{10}$ et en dosant par NaOH l'acide non neutralisé.

Cette alcalinité (virage au méthylorange) correspond à :

$$29 \text{ cm}^3 18 \text{ SO}^4 \text{H}^2 \frac{N}{10}$$

Ces deux dosages permettent d'établir une relation entre les bases solubles et insolubles.

L'alcalinité soluble correspond à KOH et NaOH libres ou carbonatées (le liquide ne donnant pas la réaction des phosphates).

L'alcalinité insoluble indique la présence de chaux et de magnésie sous forme de carbonates et de phosphates.

La forte proportion de carbonate de calcium peut s'expliquer par la curieuse propriété que possèdent les rivulaires de fixer ce corps. On sait d'ailleurs que certaines rivulaires d'eau douce (*Rivularia hematites* Ag.) en contiennent de très grandes proportions, qui leur donnent une consistance pierreuse.

III. — TENEUR EN AZOTE

4 gr. 9 de rivulaires séchées à 110° sont traités par SO⁴H² suivant la méthode de Kjeldahl.

On a obtenu les résultats suivants :

2,42 % en azote, ou 15 % calculés en protides.

CHAPITRE II

EXTRAITS ALCOOLIQUES : GLUCIDES

I. — FIXATION

Les rivulaires, nettoyées avec soin, sont jetées dans l'alcool absolu bouillant; l'ébullition est maintenue quinze minutes. Ce traitement, effectué aussitôt que possible après la récolte, a pour but d'arrêter toute action diastasique et de dissoudre partiellement un certain nombre de substances, en particulier les glucides.

II. — PROPRIÉTÉS DU LIQUIDE

La filtration, faite à chaud sur Buchner, sépare les thalles du liquide alcoolique, opération parfois laborieuse, car l'alcool dilué par l'eau contenue dans les algues ne titre que 65° et entraîne de la gomme (1).

Le liquide d'un vert très intense contient une forte proportion de NaCl, qui se dépose partiellement, après quelques jours, sur les parois du ballon.

On évapore l'alcool sous pression réduite, les pigments se déposent en partie, et il reste un liquide épais à forte odeur de marée.

Le liquide obtenu est neutre, l'alcool fort y coagule de fins filaments de gomme, qui, peu à peu, se rassemblent à la surface du liquide.

Le sous-acétate de plomb, l'acide phosphotungstique, les sels des métaux lourds déterminent une abondante précipitation. L'azotate d'argent, le chlorure de baryum donnent des précipités qui indiquent la présence de chlorures et de sulfates. Les sels de magnésium contenus dans ce liquide permettent l'obtention du phosphate ammoniaco-magnésien.

(1) On adopte le nom de « gomme » pour désigner la matière visqueuse de l'algue.

L'étude précise de ce liquide ne peut se faire qu'après défécation, mais la présence de chlorures complique l'opération, en effet :

— Avec le sous-acétate de plomb, il se forme du chlorure de plomb, qui précipite et recule ainsi le terme de la défécation; le liquide se surcharge en acétates très gênants pour les hydrolyses et les cristallisations ultérieures.

— Avec l'acide phosphotungstique, une certaine quantité d'acide chlorhydrique est libérée (1).

La neutralisation à la baryte entraîne la formation de chlorure de baryum soluble.

On a essayé de diminuer la proportion de chlorures par le procédé suivant : on met à sec, sous pression réduite, la solution aqueuse; on laisse plusieurs jours sous alcool 95°; l'opération répétée plusieurs fois enlève une certaine quantité de chlorures, qui cristallisent, mais l'alcool n'a dissous que peu de substances organiques.

L'alcool évaporé, on reprend par l'eau et on défèque à l'acide phosphotungstique, jusqu'à ce qu'il ne se produise plus aucun précipité.

Le liquide est neutralisé à la baryte, l'excès de réactif est chassé par un courant de CO_2 .

La solution claire, légèrement ambrée, est dextrogyre.

En rapportant la déviation polarimétrique à une liqueur L, dont le volume en centimètres cubes est exprimé par le même nombre que le poids en grammes des algues traitées, on a :

$$\alpha = +0^{\circ}10' \quad \alpha = +0^{\circ}16' \quad (\lambda = 5890 \quad l = 2)$$

La défécation ayant été effectuée à fond, on a éliminé les corps à grosse molécule (substances albuminoïdes, gommés).

La déviation, ou résultante de déviations, a pu être produite par :

- des polyols;
- des glucides simples;
- des glucosides;
- des glucides hydrolysables.

(1) Acide phosphotungstique pur (P^2O_5 , 12 TuO_3 , 4 H^2O). 10 gr.
 SO^4H^2 pur 5 gr.
 H^2O q.s. pour 10 cm^3

III. — RECHERCHE DES SUBSTANCES CONTENUES DANS LES EXTRAITS ALCOOLIQUEUX

A. *LIPIDES*. — Le liquide aqueux provenant de la fixation alcoolique est mis à sec sous pression réduite. La substance sèche est reprise plusieurs fois par l'éther bouillant. Ce solvant évaporé, on obtient un corps onctueux, très coloré en vert par les pigments, et qui se dissout rapidement dans le chloroforme; cette substance, qui semble être de nature lipidique, sera étudiée ultérieurement.

B. *POLYOLS*. — La recherche porte surtout sur le mannitol. Le liquide de fixation, mis à sec sous faible pression, est repris par l'alcool 95° bouillant. On met sous dessiccateur. Dans ces conditions, le mannitol aurait cristallisé; il n'a été obtenu aucun résultat. On utilise alors la méthode optique mise au point par BADREAU et OBATON (4-53).

Le pouvoir rotatoire lévogyre du mannitol est exalté, devient dextrogyre et tend vers un maximum, si l'on ajoute dans la solution rendue alcaline une liqueur titrée d'acide arsénieux, telle que

$$\frac{\text{Poids d'acide arsénieux}}{\text{Poids de mannitol}} \geq 17,5$$

L'addition d'acide arsénieux n'a déterminé aucun changement dans la rotation primitive.

C. *SUCRES REDUCTEURS SIMPLES*. — Les dosages effectués suivant la méthode de G. BERTRAND (7) ne révèlent que peu de sucre réducteur; ces dosages ont été faits avant et après défécation: 280 cm³ de liquide d'extraction alcoolique provenant de 950 gr. d'algues fraîches ont donné : 0 gr. 840 de réducteur calculé en glucose, soit 0 gr. 088 pour 100 gr. de matériel frais.

Les algues ont été récoltées sitôt découvertes par l'eau, fixées quelques heures après. Il ne semble pas qu'une fermentation ait pu se produire dans ces conditions.

L'étude du sucre réducteur ayant été faite avant tout traitement chimique, on peut supposer que cette petite quantité de sucre réducteur préexiste dans les algues vivantes.

On sait que les recherches effectuées sur les algues brunes ou rouges n'en ont révélé que de très petites quantités (P. RICARD, 56; GUEGUEN, 34; AUGIER, 2).

Floridées d'eau douce : moins de..	0,04 %	du poids frais.
Floridées marines : moins de....	0,05 %	—
Phéophycées : moins de	0,05 %	—

D. *GLUCOSIDES*. — Les algues, débarrassées des corps gras par ébullition dans l'éther bouillant, sont traitées par l'éther acétique. Ce solvant évaporé, on n'obtient aucun résidu. Si l'on fait agir l'émulsine sur le liquide aqueux provenant de la fixation des algues, on n'observe aucune transformation.

E. SUCRES COMPLEXES :

1° *Floridoside*.

Les Cyanophycées ont quelques convergences physiologiques avec les Floridées d'eau douce; en particulier, on rencontre en chacune d'elles un mélange des pigments : phycoérythrine et phycocyanine.

On a mis récemment (COLIN et AUGIER, 17; AUGIER, 2) en évidence le floridoside dans les algues rouges d'eau douce. Il semblait donc logique de rechercher ce sucre complexe dans les Cyanophycées, en employant les mêmes méthodes.

Les extraits aqueux provenant de la fixation alcoolique, traités par l'autolysat vieilli de levure basse, ne subissent aucune variation optique, alors que du floridoside ajouté dans le même milieu se transforme en quelques heures.

L'action hydrolysante des acides n'a d'ailleurs pas montré la présence de galactose, sucre simple, qui entre dans la composition du floridoside.

2° *Saccharose*.

Les Cyanophycées n'en contiennent pas trace : la sucrase reste sans action.

3° *Tréhalose*.

ACTION DES ACIDES

Le liquide d'extraction alcoolique, déféqué à fond, est soumis à l'hydrolyse acide.

Au bain-marie bouillant, l'action est lente, même avec 3 % en poids d'acide sulfurique. A l'autoclave à 120°, avec 2 % en poids d'acide, elle se termine en une heure et demie.

La déviation initiale positive diminue de plus des deux tiers de sa valeur, tout en restant positive, tandis que le réducteur augmente.

130 cm³ de liquide provenant de 900 gr. d'algues fraîches

Autoclave à 120°—2 % SO⁴H²

Temps	Déviati <u>o</u> n l = 2 ; t° = 18°	Réducteur ‰	[α_D]
0	+1°50'	0,050	53
30 m.	+1° 2'	0,360	
1 h.	+0°40'	—	
1 h. 30	+0°36'	0,560	
2 h.	+0°36'	0,560	

AUTRES EXPÉRIENCES

(Autoclave à 120°—2 % SO⁴H²— l = 2)

Déviati <u>o</u> n initiale	Déviati <u>o</u> n finale	R % calc. en glucose	[α_D]
+1°4'	+0°24'	0,375	53
+1°42'	+0°34'	0,560	50
+1°	+0°20'	0,330	50

Le liquide d'hydrolyse, neutralisé à la baryte jusqu'à PH=5, puis amené à PH=7 par le carbonate de baryum, est additionné d'acétate de phénylhydrazine.

Au bain-marie bouillant, on obtient exclusivement l'osazone en aiguilles caractéristiques du glucose, qui, purifiée, desséchée, fond au bloc Maquenne à 230°.

On peut, d'après ces expériences, supposer la présence du tréhalose dans les extraits alcooliques des rivulaires.

ACTION DES DIASTASES

On soumet le liquide dextrogyre à l'action de la poudre de *Mucor* : la transformation commence, progresse très lentement. En deux mois, la déviation passe de +0°35' à +0°18' (l=2), et le réducteur de 0 à 0,250 ‰, le pouvoir rotatoire final est de +60°.

Avec la poudre d'*Aspergillus niger*, l'action est plus rapide.

La déviation diminue de $\alpha = +1°28'$ à 0°56' (l=2) en trois semaines, et le réducteur augmente de 0 à 0,800; le pouvoir rotatoire obtenu en fonction du réducteur et de la déviation est de :

$$[\alpha_D] = +58°.$$

IV. — PRÉPARATION DU PRINCIPE SUCRÉ A L'ÉTAT PUR

Malgré la faible proportion du principe sucré, il n'atteint guère que 1 % du poids frais, la cristallisation a été tentée.

La solution sucrée, déféquée à fond, est évaporée sous pression très réduite. On reprend par l'alcool 90° bouillant, et on filtre; ce procédé isole des impuretés une petite quantité de sels, mais la plus grande partie des chlorures de sodium et de magnésium passe avec le principe sucré dans l'alcool.

L'alcool évaporé, le sirop est repris par l'eau et soumis à l'action de la zéolithe argentique.

La zéolithe synthétique du commerce (1) est un silicate complexe peu soluble dans l'eau.

Un atome de métal de sa molécule peut se substituer à l'ion métallique d'une solution, et inversement.

Ces zéolithes, utilisées pour la décalcification des eaux, ont été d'un grand secours pour débarrasser les milieux sucrés de leurs chlorures.

On traite la zéolithe du commerce (silicate d'Al, Na, Ca) par une solution à 5/100° d'azotate d'argent; on obtient de la zéolithe argentique, que l'on introduit dans la solution sucrée; on assure un mélange très intime des produits en agitant.

Il se forme un précipité insoluble de chlorure d'argent, et la zéolithe argentique redevient sodique. L'opération répétée jusqu'à disparition des chlorures, on filtre sur Buchner.

Un courant de H²S est parfois nécessaire lorsque le liquide présente un louche dû au chlorure d'argent colloïdal.

Le liquide sucré est concentré sous vide à l'état de sirop épais; on reprend par l'alcool 90° bouillant, et on abandonne à la cristallisation.

On a obtenu, après plusieurs jours, des cristaux que M. le Professeur GAUDEFROY a bien voulu étudier [H. COLIN et J. PAYEN, 18].

Prismes orthorhombiques à biréfringence faible et positive : ces cristaux, de taille assez grande pour qu'on ait pu mesurer l'angle des faces, présentent tous les caractères cristallographiques du tréhalose.

(1) G. AUSTERWEIL, Ch. JEANPROST : *Bull. Chim. et Distill.*, p. 206 (1932). Maison Zerhyd (Paris).

Ils en ont d'ailleurs les propriétés physiques et chimiques : la saveur sucrée se rapprochant de celle du saccharose, l'insolubilité dans l'alcool absolu, la fusion rapide dans l'eau, la liqueur donnant alors une forte déviation positive.

CONCLUSION

Il résulte de cette étude que les Cyanophycées contiennent un principe dextrogyre à fort pouvoir rotatoire spécifique, et non réducteur.

Ce corps, soluble dans l'alcool à 90°, résiste aux extraits vieillis de levures, mais se laisse très lentement attaquer par certaines poudres fermentaires, telle que celle d'*Aspergillus niger*.

Soumis à l'action des acides, il s'hydrolyse et donne exclusivement du glucose.

Ce corps, identifié au tréhalose par ses propriétés et sa forme cristalline, n'a encore été signalé, dans les algues, que dans le groupe des Bangiales (COLIN et AUGIER, 17).

Commun chez les Champignons, ce sucre n'a été mis en évidence, chez les plantes vertes, que dans quelques espèces de Sélaginelles et dans certaines phanérogames parasitées.

On a souvent tenté de rapprocher Bangiales et Cyanophycées, malgré leurs différences cytologiques ; elles ont un constituant chimique commun : le tréhalose.

CHAPITRE III

EXTRAITS AQUEUX

GOMME DE RIVULARIA BULLATA

Les rivulaires traitées par l'alcool 80°-90° bouillant, et ne contenant plus de glucides solubles dans ce liquide, sont soumises au traitement aqueux.

1° *Eau froide* : On fait macérer l'algue dans de l'eau froide sous toluène : une très faible quantité de gomme se solubilise après un temps trop long pour que l'opération soit continuée utilement.

2° *Eau bouillante* : La gomme diffuse peu à peu, mais il faut de nombreuses extractions (10 litres d'eau pour 1 kg. d'algues fraîches) pour extraire la plus grande partie de la gomme. Après chaque opération, on exprime le thalle par une énergique pression.

I. — PROPRIÉTÉS DU LIQUIDE

L'extrait recueilli est épais, visqueux et de couleur verdâtre. Dilué dans de fortes proportions, il se laisse filtrer sur linge, puis sur papier.

a) *Il est dextrogyre*. Les déviations sont très faibles, étant donné la dilution des liqueurs; les lectures sont rendues difficiles par l'opalescence de la solution.

Plusieurs mesures ont été effectuées sur des milieux de différentes concentrations :

$$\alpha = +0^{\circ}6' \qquad \alpha = +0^{\circ}8' \qquad \alpha = +0^{\circ}30'$$

Le pouvoir rotatoire spécifique rapporté au poids sec (110°) de gomme dans 100 cm³ de la solution est au voisinage de $+80^{\circ}$.

b) *Le liquide est neutre*.

c) *Il n'a aucun pouvoir réducteur.*

d) *Il précipite par l'acétate basique de plomb, l'acide phosphotungstique, par les sels de cuivre.*

En milieu dilué, la baryte détermine une abondante floculation; en milieu concentré, tout le liquide se prend en masse.

e) *L'alcool coagule la gomme en fins filaments, qui, peu à peu, se rassemblent à la partie supérieure du liquide. La coagulation commence quand le titre alcoolique est à 60°, et elle s'accélère au fur et à mesure que le titre s'élève.*

La gomme, très concentrée, versée dans de l'alcool absolu, se prend en une masse fibreuse, blanche, très épaisse.

f) *La solution aqueuse de gomme, évaporée à 60°, donne : en couche mince, de fines pellicules brunes, transparentes; en couche épaisse, une masse dure, difficile à broyer et qui ne se redissout que très difficilement dans l'eau.*

g) *Le liquide d'extraction aqueuse ne contient pas trace de matière amylacée.*

II. — ETUDE DES CENDRES

1. Quantité de cendres.

Les propriétés du liquide d'extraction aqueuse sont celles de la gomme qui y est contenue. Cette gomme, séchée à 110°, contient une forte proportion de sels :

0 gr. 841 de gomme à 110°
donnent 0 gr. 134 de cendres, soit 16 %.

Ces cendres contiennent 25 % de leur poids de sels solubles dans l'eau.

0,032 cendres solubles.
0,102 cendres insolubles.

0,134 cendres totales.

2. Alcalinité des cendres.

Pour 0 gr. 134 de cendres :

- l'alcalinité soluble équivaut à $2 \text{ cm}^3 8$ d'acide sulfurique $\frac{N}{10}$.
- l'alcalinité insoluble à $13 \text{ cm}^3 3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{N}{10}$.

Pour un gramme de gomme, le rapport de l'alcalinité soluble à l'alcalinité insoluble est $\frac{20}{90}$ soit environ $\frac{1}{5}$.

Qualitativement, on trouve du sodium, du potassium, du magnésium, du calcium sous forme de chlorures, sulfates, carbonates. L'abondance de la chaux et de la magnésie explique le chiffre élevé de l'alcalinité insoluble.

Il reste un dépôt de silice.

III. — TENEUR EN AZOTE

Chauffée avec une pastille de potasse, la gomme donne un dégagement d' NH_3 .

0 gr. 690 de gomme séchée à 110° , traités suivant la méthode de Kjeldahl, ont donné 16 cm^3 l d'azote, soit 2,33 % d'azote ou 14,6 % calculés en protides.

IV. — PURIFICATION DE LA GOMME

Il est nécessaire d'abaisser, dans cette gomme, le pourcentage de matières minérales et d'azote, en utilisant des procédés qui ne modifient pas la composition chimique du produit.

La gomme liquide, mais épaisse, est enfermée par petites portions dans des sacs de collodion, que l'on suspend dans une solution HCl 0,5 %. La dialyse se fait très lentement, la gomme ne passe pas à l'extérieur, mais l'opération est interminable.

De meilleurs résultats ont été obtenus par le procédé suivant : la gomme, très diluée pour en diminuer la viscosité, est filtrée sur Buchner; placée dans de hautes éprouvettes pour faciliter la décantation ultérieure, on l'additionne de HCl jusqu'à 0,5 %. La floculation des substances albuminoïdes se fait bien; après vingt-quatre heures, on décante et on filtre à nouveau.

Le liquide est concentré sous vide à une température d'environ 40° ; l'opération est longue, mais a cet avantage de ne permettre aucune action de l'acide sur la gomme. Lorsque la concentration est suffisante, on précipite par l'alcool, opération qui a pour but d'isoler des sels qui restent dans le liquide; on lave la gomme à l'alcool et on sèche sous vide.

Le produit obtenu contient encore 8 % de cendres, 0 gr. 437 de gomme à 110° fournissent 0 gr. 043 de cendres.

Pour un gramme de gomme l'alcalinité soluble $7 \text{ cm}^3 \text{ } \frac{\text{N}}{10} \text{ SO}^4\text{H}^2$ l'alcalinité insoluble $46,5 \text{ cm}^3 \text{ } \frac{\text{N}}{10} \text{ SO}^4\text{H}^2$.

Le rapport des deux alcalinités est :

Plusieurs opérations successives auraient donné un produit plus pur, mais les pertes sont considérables et la purification doit rester partielle, faute de substance.

V. — HYDROLYSE ACIDE DE LA GOMME

Les expériences suivantes ont été effectuées sur de la gomme brute, puis vérifiées sur de la gomme purifiée.

On soumet (au bain-marie bouillant) des solutions diversement concentrées de gomme, à l'action les unes de HCl, les autres de SO^4H^2 .

Avec 1 % d'acide en poids, l'action est très lente; avec 2 %, l'hydrolyse se fait bien et les résultats sont identiques, quelles que soient la concentration de la gomme et la nature de l'acide.

A l'autoclave, à 120° , l'opération se termine en une heure.

Au bain-marie bouillant, on peut suivre avec plus de précision sur un produit purifié les variations :

1° Du sucre réducteur, qui augmente progressivement;

2° De la déviation, qui baisse tout en restant positive.

Dans ce cas, l'opération s'arrête après deux heures, sans être terminée; en ajoutant 2 % d'acide et en prolongeant une heure, elle ne progresse plus.

Il faut trente minutes d'autoclave pour amener l'hydrolyse à son terme.

6 gr. 1 gomme purifiée séchée à 110° dans 100 cm^3 HCl 2 % en poids Bain-marie 100°			
Temps	Déviation $l = 1 \text{ dm.}$	Réducteur %	$[\alpha_D]$
0	illisible	0	
1 h.	$+1^\circ 36'$	1,575	—
1 h. 15	$+1^\circ 34'$	1,650	
1 h. 30	$+1^\circ 32'$	1,775	
1 h. 45	$+1^\circ 30'$	—	
2 h.	$+1^\circ 24'$	1,950	$+66$
	Autoclave 120°		
2 h. 30	$+1^\circ 20'$	2,27	$+58$

Les gommés étudiées proviennent de diverses récoltes de rivulaires; elles sont constituées par un mélange des extractions successives opérées sur les algues.

DIVERSES HYDROLYSES EFFECTUÉES					
Produit traité	Déviatiôn après 30 ^m au bain-marie	Déviatiôn après 1 h. au bain-marie	Déviatiôn finale 1 h. 30 au B.-M. plus 30 ^m autoclave	R % en glucose	[α_D]
Gomme purifiée Action HCl 2%	—	+0°34'	+0°24'	0,350	58
— Gomme brute Action HCl 2%	+ 1°28'	+0°54'	+0°42'	0,580	62
— Gomme brute Action SO ⁴ H ² 2%	—	+0°32'	-0°24'	0,370	56
— Gomme brute Action SO ⁴ H ² 2%	+2° (lecture douteuse)	+1°48'	+1°30'	1,320	56

Ces gommés donnent des produits d'hydrolyse dont l'ensemble a un pouvoir spécifique oscillant entre 56° et 62°.

VI. — IDENTIFICATION DES PRODUITS D'HYDROLYSE

Le liquide d'hydrolyse, neutralisé au carbonate de baryum, est concentré. L'addition d'un volume d'alcool absolu détermine un précipité que l'on sépare sur Buchner.

L'opération étant répétée plusieurs fois, on a donc : un filtrat et un précipité.

1° Etude du filtrat

Le liquide obtenu après évaporation de l'alcool a un pouvoir rotatoire de +62°, donc très peu supérieur à celui de la liqueur totale.

Il donne, avec l'orcine en milieu chlorhydrique, la coloration violette des pentoses.

Avec l'acétate de phénylhydrazine à froid, il ne fournit aucune

hydrazone, mais au bain-marie bouillant, il donne une abondante osazone en longues aiguilles raides, groupées en balais, ayant l'aspect et le point de fusion 230° (mesuré au bloc Maquenne) de la glucosazone; en refroidissant, il se forme une osazone dans laquelle on peut reconnaître des cristaux d'arabinosazone; cette osazone, lavée à la benzine pour éliminer le réactif, reprise plusieurs fois par l'eau bouillante, a un point de fusion de 160° mesuré au tube capillaire.

Ces résultats permettent de penser que le liquide d'hydrolyse de la gomme contient :

Du glucose ou du mannose (les deux sucres donnant la même osazone).

De l'arabinose et peut-être une très petite quantité de galactose.

Il serait nécessaire de séparer les différents sucres et de trouver leurs proportions dans le mélange, mais l'isolement des sucres est difficile étant donné la faible quantité de substance dont on dispose : le milieu très impur doit être soumis à des opérations répétées, qui entraînent une grande partie du produit.

On tente cependant cette opération. Le filtrat, déféqué par l'acide phosphotungstique, neutralisé, passé à la zéolithe argentique pour enlever les chlorures, est mis à sec sous pression très réduite. On reprend le sirop par l'alcool 95° bouillant, une dissolution partielle s'effectue, et on obtient des liqueurs dont le pouvoir rotatoire croît progressivement avec les reprises alcooliques : 70° , 81° , 90° .

Ce dernier chiffre n'a jamais été dépassé et n'a été obtenu qu'après une perte considérable de produit; les osazones indiquent que le fractionnement n'est pas suffisant.

On a essayé d'éliminer un des composants du mélange par l'action des levures.

Le glucose est attaqué par la levure de boulangerie; l'arabinose est infermentescible. On utilise une solution contenant 1,05 % de sucre évalué en glucose, donnant une rotation positive de $+1^{\circ}23'$ ($l=2$).

	Rotation	Réducteur %.	α_D
	$+1^{\circ}23'$	1,05	58,5
après 48 h.	$+1^{\circ}$	0,76	65
après 72 h.	$+0^{\circ}9'$	0,52	86,5

Après soixante-douze heures, la levure a fait disparaître une certaine quantité de glucose; le pouvoir rotatoire croît : il semble donc bien que le deuxième sucre ait un pouvoir spécifique plus élevé que le glucose.

Une deuxième expérience a donné des résultats identiques :

Après 48 heures $+1^{\circ}2'$ 1,375 % de réducteur $[\alpha_D]=71$.

Après 48 heures $+0^{\circ}46'$ 0,900 % de réducteur $[\alpha_D]=85$.

Si l'on admet que l'on est en présence de l'arabinose, ce sucre, à ce moment, représente 35 % du réducteur restant.

La recherche des proportions des différents sucres dans le mélange constitue un problème plus abordable.

1° On utilise la propriété que possède l'arabinose de donner, par distillation avec HCl concentré, un dégagement de furfurol que l'on peut séparer à l'état de phloroglucide insoluble; par pesée et en suivant les tables de TOLLENS, on détermine la teneur en pentose.

La solution utilisée ne contient ni chlorures ni sulfates et donne une déviation de $+2^{\circ}28'$ ($l=2$); elle renferme 1,9 % de réducteur calculé en glucose.

Une opération préliminaire consiste à doser, sur 20 cm³ de la liqueur, le dégagement de CO², afin de s'assurer que le milieu ne renferme pas d'uronates de baryum, ceux-ci étant susceptibles de fournir du furfurol.

Le liquide n'en décèle aucune trace.

20 cm³ de solution contenant 0 gr.380 de réducteur sont soumis à l'action de HCl à 12,5 % pendant cinq heures.

L'opération est arrêtée lorsque l'acétate d'aniline ne donne plus de teinte rose avec le liquide.

On ajoute alors 0 gr. 360 de phloroglucine; après douze heures, le précipité vert noir est filtré sur creuset de Gooch, lavé à l'eau, séché à l'étuve 100° et pesé.

On a 73 mmgr. 6 de précipité.

Dans les conditions de l'expérience, on admet qu'il reste en solution un poids de phloroglucine égal à 5 mmgr. 2.

On peut calculer l'arabinose correspondant par la formule :

$$A=(p+0,0052) \times 1,11$$

Ce précipité correspond à 0 gr. 087 d'arabinose dans 0 gr. 380

de réducteur total, donc le mélange contient environ 23 % en poids d'arabinose pour 77 % d'un autre sucre.

Si l'on admet ces proportions, il devient difficile de penser à la présence du mannose, dont le pouvoir rotatoire spécifique de 13 ne saurait, dans la proportion de 77 %, fournir une rotation de 62 avec l'arabinose.

Le glucose, dont on a une abondante osazone, semble donc accompagner l'arabinose dans les produits d'hydrolyse.

On peut vérifier rapidement, mais d'une façon approximative, la proportion des deux sucres, en utilisant la lecture polarimétrique et le dosage du réducteur par la liqueur de Fehling.

On sait que le pouvoir rotatoire spécifique est donné par la formule :

$$[\alpha_D] = \frac{\alpha \times 100}{p \times 2}$$

$$\alpha = +2^{\circ}46 \quad (l=2) \quad \left\{ \begin{array}{l} p=1,9 \text{ quantité de réducteur calculé en glucose} \\ \text{dans } 100 \text{ cm}^3 \text{ de la liqueur.} \end{array} \right.$$

$$(1) \quad \alpha_a + \alpha_g = +2^{\circ}46 \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Somme des déviations dues à chaque sucre.} \end{array} \right.$$

$$(2) \quad r_a + r_g = 1,9 \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Somme du réducteur dû aux deux sucres, en} \\ \text{admettant que l'arabinose réduit comme le} \\ \text{glucose.} \end{array} \right.$$

$$[\alpha_D] \text{ glucose} = 52.$$

$$[\alpha_D] \text{ arabinose} = 103.$$

$$52 = \frac{\alpha_g \times 100}{r_g \times 2}$$

$$103 = \frac{\alpha_a \times 100}{r_a \times 2}$$

De ces égalités, on tire :

$$r_a = 0,48$$

$$r_g = 1,42$$

ou 24 parties d'arabinose pour 71 de glucose, chiffres qui se rapprochent sensiblement de ceux trouvés par le dosage du furfurol.

En résumé : Le filtrat provenant du liquide d'hydrolyse de la gomme, après précipitation par l'alcool, contient environ :

23 % d'arabinose,
et 77 % de glucose.

2° Etude du précipité

Le précipité obtenu par addition d'alcool fort dans le liquide d'hydrolyse neutralisé au carbonate de baryum est collant, très adhérent aux parois des vases : lavé plusieurs fois à l'alcool, séché sous

vide, il donne une poudre fine de couleur crème, qui se remet instantanément en solution dans l'eau en donnant un liquide brun foncé.

Cette solution dévie la lumière polarisée à droite et réduit, même à froid, la liqueur de Fehling.

Le pouvoir rotatoire spécifique, très faible, est au voisinage de $+15^\circ$ (les lectures sont souvent imprécises, le liquide étant très coloré).

$$\alpha = +0^\circ 30' \text{ (l=2)} \quad R = 1,75 \% \quad [\alpha_D] = +14^\circ$$

Chauffée quelques minutes au bain-marie bouillant avec un volume d'acide chlorhydrique concentré, et une petite quantité de naph-torésorcine, la solution prend une fluorescence verte : un précipité vert noir se forme, qui se dissout dans l'éther en une solution violette très intense, qui présente, examinée au spectroscope, une raie d'absorption dans la région jaune et verte.

Ces diverses réactions permettent de supposer la présence de sels d'acides uroniques dans la liqueur d'hydrolyse (TOLLENS, 65).

Un dosage de CO^2 confirme la présence de ces corps, sans qu'on puisse demander à cette opération des renseignements quantitatifs (NANJI, PATON, LING, 49).

Dosage de CO^2 . — 0 gr. 670 de gomme bien exempte de carbonates sont soumis à l'action de HCl à 18 % pendant six heures. Le gaz carbonique recueilli dans la potasse décarbonatée sous forme de CO^3K^2 est dosé après transformation en CO^3Ba .

On trouve une proportion de 3,5 % (les pectines en donnent théoriquement 15 % et l'algine 21 %).

Ce dosage, effectué sur 0 gr. 818 de précipité obtenu après hydrolyse, neutralisation et précipitation par l'alcool, donne 5 % de CO^2 . Si l'on considère que les acides uroniques purs donnent théoriquement 23 % de CO^2 , on peut en déduire que le précipité contient environ 21 % d'acides uroniques.

Ces résultats montrent que la présence des acides uroniques est certaine dans la gomme de rivulaires, que ces acides, sous forme d'uronates de baryum, précipitent par l'alcool, mais ils indiquent aussi qu'une très faible proportion seulement de ces acides est recueillie; l'hydrolyse brutale par les acides, les précipitations et filtrations déterminent des pertes énormes.

Recherche du Baryum retenu par les Acides Uroniques

0 gr. 43 de précipité, purifié par des dissolutions et précipitations successives, et séché sous vide, sont remis en solution : on décompose

celle-ci par SO^4H^2 . Le précipité SO^4Ba obtenu, séché, puis calciné au four à moufle, pèse 0 gr. 055.

Le précipité primitif d'uronates de baryum retient donc 7,5 % de baryum.

(Ce précipité par l'alcool donne 5 % de CO^2 et retient 7,5 Ba. L'algine donne 21 % de CO^2 , ses uronates retiennent 26 % de Ba.)

VII. — RECHERCHE DE LA NATURE DES ACIDES URONIQUES

Depuis plusieurs années, d'intéressantes recherches sur les pectines, mucilages, hémicelluloses, saponines (REHORST, 55), gommes, ont mis en évidence, dans ces corps, un noyau fondamental constitué d'acides uroniques.

Les acides uroniques, qui dérivent de l'oxydation des oses et qui, lorsqu'ils sont simples, prennent le nom de glycuroniques, galacturoniques, mannuroniques, sont susceptibles de donner des produits de condensation : plusieurs molécules d'acides se combinent entre elles, laissant libres les carboxyles. Le groupement prend alors le nom d'acides polyuroniques (Exemple : acide tétragalacturonique de la pectine de betterave). (EHRlich et F. SCHUBERT, 26).

Ces acides polyuroniques, par leurs fonctions restées libres, peuvent donner des séries de combinaisons :

- a) Par union avec des sucres (hexoses, pentoses) ;
- b) Par éthérification du carboxyle R-COOH (éthers-sels) ;
- c) Par éthérification de la fonction alcool ou phénol (éthers-oxydes).

Ces composés, plus ou moins complexes, sont désignés sous le nom d'uronides, polyuronides.

On réserve le nom d'acide aldobionique à l'association qui comprend une molécule d'acide uronique et une molécule de sucre (gomme d'acacia, gomme arabique) (CHAMBRON, 14).

Les travaux qui se rapportent à la gomme des algues sont peu nombreux : si l'on en excepte les recherches effectuées sur la gomme des Floridées d'eau douce par J. AUGIER (2), recherches indiquant la présence des acides uroniques, la plupart des études portent sur les algues brunes, qui constituent un matériel important.

Ces acides ont été signalés par SCHMIDT et VOCKE (60), puis

par P. RICARD (56) dans les algues brunes. On doit à MM. CRETCHER et NELSON (19), BIRD et HAAS (8) la mise en évidence de l'acide mannuronique de *Laminaria saccharina*, puis à SCHÆFFEL et LINK, CRETCHER et NELSON (61-19) l'étude de ce même acide dans *Fucus serratus* et dans *Macrocystis pyrifera*.

Des recherches de NEUBERG et KOBEL (51) ont porté sur la capsule de certaines bactéries, en particulier sur le *Pneumococcus III*, et NETCH et FREUD ont mis en évidence la liaison acide glycuronique-glucose.

Tous ces travaux signalent la grande difficulté éprouvée dans l'étude de ces corps instables, fragiles, passant facilement de l'acide à la lactone.

Un seul moyen permet l'identification certaine, c'est la cristallisation de l'acide; or, elle ne peut être obtenue que si l'on part d'un matériel abondant et facile à purifier.

Ne possédant maintenant que des quantités extrêmement réduites de produit, il ne faut pas songer à obtenir une cristallisation, et, par conséquent, à identifier nettement l'acide extrait des rivulaires; mais la mise en évidence de quelques propriétés peut restreindre le champ des investigations.

1° Recherche d'un Uronide ou d'un Acide Aldobionique

Est-il possible, en étudiant la courbe d'hydrolyse, de déceler plusieurs phases dans la transformation et, par conséquent, d'isoler, à un moment donné, un complexe uronique ?

1° L'hydrolyse de la gomme faite au bain-marie bouillant s'arrête lorsque le pouvoir rotatoire spécifique du liquide est $+66^{\circ}$ - 70° .

A ce moment, on neutralise à la baryte (la neutralisation exacte obtenue avec CO^3Ba) : la lecture et le dosage faits sur le liquide filtré fournissent un $[\alpha_D]$ de $+56^{\circ}$. Une substance, vraisemblablement de la gomme, a été éliminée par la neutralisation. Le liquide concentré et additionné d'alcool donne un précipité ayant les mêmes caractères que celui obtenu après hydrolyse totale.

Il ne semble pas que cet arrêt dans la transformation marque une étape, mais il indique qu'une fraction de la gomme ne cède qu'à une température de 120° .

2° Si, dans l'hydrolyse pratiquée à l'autoclave, on prolonge l'action pendant une heure, on n'observe aucun changement, mais si

l'on porte le pourcentage d'acide à 4 %, en une heure, on voit la rotation croître, tandis que le réducteur reste fixe.

Dans ce milieu complexe, il devient difficile de juger les transformations subies par une substance, formation et destruction de réducteur pouvant se compenser.

Il faut donc isoler le produit contenant les acides uroniques des sucres déjà formés.

Dans la recherche des composants de la gomme arabique, WIENMANN (68) a obtenu l'acide galactoglycuronique en précipitant le liquide d'hydrolyse *par l'alcool en milieu acide*; l'opération tentée sur le liquide d'hydrolyse non neutralisé de la gomme de rivulaires n'a donné qu'un précipité exclusivement minéral (aucune trace de carbone, feutrage de cristaux en baguettes qui, à l'analyse, se révèlent formés de SO^4Ca).

Cette précipitation par l'alcool en milieu acide, si elle n'isole pas un complexe uronique, fournit un moyen de débarrasser le précipité ultérieur d'uronates de baryum d'une certaine quantité de sels.

Le précipité obtenu *par l'alcool, après neutralisation*, est soumis à l'hydrolyse.

0 gr. 800 dans 80 cm³ d'eau

On ajoute SO^4H^2 avec précaution pour précipiter le baryum, on filtre et on acidifie à 5 %.

Temps	α ; 1 = 2	Réducteur % en glucose	$[\alpha_D]$
0	+0°32'	0,83	43
1 h.	+0°40'	—	
2 h.	+0°44'	0,83	
3 h.	+0°42'	0,78	
4 h.	+0°26'	0,42	

Une deuxième expérience fait passer en deux heures la déviation de +0°24' à +0°32'.

Donc, on observe une variation ascendante de la déviation, tandis que le réducteur reste fixe; le liquide d'hydrolyse a les mêmes caractères que le produit primitif; neutralisé avec CO^3Ba , filtré, il précipite lentement par l'alcool; ce nouveau précipité donne une belle réaction avec la naphtorésorcine.

Faute de produit, l'expérience n'a pu être répétée, mais il ne semble pas que l'on soit en présence d'une décomposition.

Les acides aldobioniques, qui ont été étudiés jusqu'à présent, exigent de quinze à vingt heures d'ébullition dans SO^4H^2 normal pour se décomposer (HEIDELBERGER et KENDALL, LINK et NEDDEN, WIENMANN, EHRLICH et REHORST, 39, 45, 68, 25).

L'hydrolyse serait ici beaucoup plus facile. Il semble plus probable que l'on soit en présence d'une transformation sous l'influence de la chaleur, passage de l'acide à la lactone dont le $[\alpha_D]$ est plus élevé.

2° Caractères de l'Uronate de Baryum et de l'Acide Uronique

1° Le sel de baryum obtenu à partir d'une gomme purifiée est faiblement dextrogyre.

$$\alpha = +0^\circ 30' \text{ (l=2)} \quad R = 1,75 \% \quad [\alpha_D] = +14^\circ$$

L'acide obtenu par décomposition de ce sel par SO^4H^2 est plus fortement dextrogyre.

$$\alpha = +0^\circ 22' \text{ (l=2)} \quad R = 0,825 \% \quad [\alpha_D] = +22^\circ$$

D'autres expériences ont donné :

Sel de baryum.	$\alpha = +0^\circ 20' \text{ l=2}$	$R \% = 0,83$	$[\alpha_D] = +19^\circ$
Acide	$\alpha = +0^\circ 32' \text{ l=2}$	$R \% = 0,83$	$[\alpha_D] = +30^\circ \text{ (1)}$

Le passage du sel de baryum à l'acide correspondant se traduit par une plus forte déviation.

Les auteurs cités ci-dessus ont donné les résultats suivants :

Glycuronate de Ba.	$[\alpha_D] = +17^\circ$	Galacturonate de Ba.	$[\alpha_D] = +32^\circ$
Lactone	$[\alpha_D] = +19^\circ$		
Acide	$[\alpha_D] = +36^\circ$	Acide	$[\alpha_D] = +69^\circ$

Le faible pouvoir rotatoire trouvé $[\alpha_D] = +14^\circ$; $+19^\circ$ semble exclure les acides polygalacturoniques et polyglycuroniques.

2° La solution d'uronates, décolorée au noir, donne, avec NaOH, une coloration jaune.

3° Traités par la naphthorésorcine en milieu chlorhydrique, le sel de baryum et l'acide donnent un précipité vert noir.

(1) Les acides uroniques réduisent un peu moins la liqueur de Fehling que le glucose. D'après les recherches de HIWA [], 1 gr. d'acide glycuronique réduit une quantité équivalente à 0 gr. 9625 de glucose.

- soluble intégralement dans l'éther en une belle solution violette;
- soluble partiellement dans le chloroforme;
- insoluble dans la benzine (le benzène prend une très légère teinte bleue).

La solution éthérée, additionnée d'un volume d'alcool, vire au bleu indigo, mais la coloration redevient violette après quelques heures.

Il est difficile de comparer ces quelques réactions à celles que donnent les acides purs, afin de tenter une identification; il est probable d'ailleurs que le produit obtenu par hydrolyse de la gomme soit un mélange d'acide et de lactone en proportions variables.

En examinant les propriétés des acides mannuroniques, galacturoniques, glycuroniques, on peut émettre quelques suppositions.

a) L'ensemble des réactions indiquées ci-dessus, le pouvoir rotatoire toujours faible, mais dextrogyre, des produits préparés, semblent éloigner la possibilité de la présence d'un acide mannuronique dont les formes isomères sont l'une très négative (-50° à -20°), l'autre positive ($+16^\circ$), mais n'est obtenue que sous forme de lactone $\alpha_D = +89^\circ$.

Les mannuronates de baryum sont lévogyres et leur précipité plombique prend, chauffé au bain-marie, une coloration chamois caractéristique.

b) Les acides galacturonique et glycuronique ont des propriétés communes. Parmi les réactions effectuées, seule l'insolubilité dans la benzine du précipité obtenu avec la naphtorésorcine ferait penser à l'acide galacturonique.

La solubilité du même précipité dans le chloroforme, le pouvoir rotatoire du sel de baryum indiqueraient plutôt un acide glycuronique. hypothèse tentante qui rapprocherait les rivulaires des bactéries déjà étudiées.

Seule la cristallisation apportera la solution de ce délicat problème.

En résumé, 100 grammes de gomme séchée à 110° ont donné, à l'analyse :

<i>Cendres</i>	16
<i>Protides</i>	14,6
<i>Acides uroniques</i>	15

(Proportion calculée d'après le dosage de CO_2).

<i>Sucres réducteurs</i>	25
--------------------------------	----

(Calculés en glucose, déduction faite des A. uroniques).

<i>Non dosé</i>	29
-----------------------	----

VIII. — FRACTIONNEMENT DE LA GOMME

La mise en évidence des différents produits d'hydrolyse de la gomme ne permet pas d'en déduire une composition précise. Les sucres : arabinose, glucose, peuvent provenir d'une arabane, d'un glucosane ou être associés à un acide uronique pour constituer un composé plus complexe.

Les arabanes négatives de la pectine de betterave ayant été isolées par l'alcool 70° (EHRlich et SCHUBERT) à l'ébullition, on utilise ce procédé.

1° *Traitement de l'algue par l'alcool 70°*

Des rivulaires dessucrées avec soin sont soumises à trois extractions par l'alcool 70° bouillant, on obtient une gomme verte, très onctueuse mais peu abondante.

11 gr. 75 de cette gomme séchée à 110° sont hydrolysés à 120° par 2 % d'acide sulfurique.

Illisible au début de l'opération, le liquide donne $+1^{\circ}12'$ de rotation ($l=1$ dm.) après trente minutes.

Après 1 h. 15 m., l'opération s'arrête et le liquide a un :

$[\alpha_D]$ de $+58^{\circ}$ ($\alpha=+1^{\circ}10'$ ($l=2$) $R=1$ % en glucose)

Aucun changement n'est constaté en prolongeant une heure avec 3 % d'acide.

Il ne passe donc pas de produit particulier dans l'alcool à 70° ; un examen de la gomme extraite par l'eau immédiatement après l'opération précédente ne montre aucune modification dans la composition.

EXTRACTION A L'ALCOOL A 70°	EXTRACTION A L'EAU
11 gr. 75 dans 500 cm ³ SO ⁴ H ² 2 %	11 gr. 75 dans 500 cm ³ SO ⁴ H ² 2 %
$\alpha=+1^{\circ}10'$ $l=2$	$\alpha=+0^{\circ}54'$ $l=2$
$R=1$ %	$R=0,73$ %
$[\alpha_D]=+58^{\circ}$	$[\alpha_D]=+61^{\circ}$

Les différences constatées : 0,73 et 1 % de réducteur ; $+0^{\circ}54'$ et $+1^{\circ}10'$ montrent que la gomme extraite à l'alcool est plus pure, qu'elle contient moins de cendres et que, de ce fait, la proportion de produit hydrolysable est plus forte que dans la gomme extraite à l'eau.

Le précipité effectué par l'alcool, en milieu acide, à la fin de l'hydrolyse, précipité constitué par des sels, est beaucoup plus faible que celui que l'on obtient avec la gomme totale.

Il y aurait là possibilité d'une purification de la gomme, si l'extraction donnait un meilleur rendement.

2° *Traitement de la gomme brute par l'alcool à 70°*

Il est possible que la diffusion de la gomme se fasse mal à partir de l'algue, surtout à la température d'ébullition de l'alcool à 70°.

On essaie le fractionnement sur la gomme brute extraite à l'eau : il passe peu de produit, et l'étude ne décèle aucune différence; même résultat en étudiant le produit extrait par l'alcool à 60°.

L'opération produit des résultats très différents lorsqu'on l'applique à la pectine.

3° *Gommes précipitées par l'alcool*

Lorsque la gomme extraite par l'eau, concentrée en une masse visqueuse, mais encore liquide, est versée dans l'alcool fort, elle coagule en fins filaments. Après quelques jours, l'alcool a dissous une certaine quantité du produit.

L'étude faite séparément sur la gomme soluble dans l'alcool et sur celle qui a précipité montre que ces deux fractions sont identiques.

CONCLUSION

La gomme de *Rivularia bullata* contient donc des acides uroniques et des sucres simples, dans lesquels on a identifié l'arabinose et le glucose.

Elle se différencie nettement de l'algine, qui ne contient que des acides uroniques.

Elle se rapproche plutôt des pectines par les éléments : acide uronique et sucres qui la composent, mais elle s'en distingue par la façon dont les composants sont groupés.

Il ne semble pas d'ailleurs que la gomme de rivulaires contienne une arabane.

CHAPITRE IV

RECHERCHE DU GLYCOGÈNE. — AUTOLYSAT.

Le glycogène est la seule substance dont on ait signalé la présence dans les Cyanophycées.

Les observations ont porté sur les Nostocacées et les Oscillariacées (NÆGELI, 52).

Cette hypothèse est exclusivement basée sur la coloration brun acajou que prend le glycogène en présence de l'iode.

CLAUTRIAU (15) indique que l'accumulation des granulations observées dans le protoplasme pariétal, et qui existent dans les spores, est toujours accompagnée d'un dépôt de substance brunissant par l'iode.

FISCHER, en 1905, signale un produit de l'assimilation chlorophyllienne, auquel il donne le nom d'anabénine, qui est, dit-il : « Comparable à la fécule des plantes supérieures, au paramylon des Euglénidés, et qui se compose de glycogène. »

NADSON signale, dans la zone corticale, des grains colorables en bleu par l'hématoxyline, qui seraient des grains de réserve et remplaceraient l'amidon.

ERRERA (29), étudiant *Oscillatoria formosa* Bory, dit : « Par l'iode 1 % dans IK, la couche pariétale se colore en brun plus ou moins foncé, le corps devenant jaune. Avec l'objectif à immersion homogène, on s'assure que la teinte brune n'est pas uniformément répartie dans la couche pariétale, mais que celle-ci, colorée en jaune par l'iode, renferme de petites masses irrégulières qui se sont colorées en brun.

« On a l'impression de vacuoles dans lesquelles se trouverait, à l'état amorphe, la substance colorable en brun. Cette coloration est un peu acajou, elle pâlit nettement à chaud et revient par refroidissement. Les cellules sont si petites que l'écrasement ne m'a pas donné

de résultats certains. Il y a tout lieu d'admettre que nous avons affaire ici à du glycogène ou à une substance très voisine... »

GUILLIERMOND déclare : « On remarque la présence de glycogène plus ou moins abondant dans la plupart des cellules. Il paraît naître dans le cytoplasma cortical, pénètre dans la zone centrale et envahit la cellule. »

*
**

On soumet alors les rivulaires fraîches à l'action de l'iode; tout le protoplasme se colore en jaune pâle, les hétérocystes prenant une coloration plus intense; l'opération répétée sur l'algue desséchée et débarrassée de la plus grande partie de la gomme donne le même résultat.

La teinte, qui n'a jamais été brun acajou, ne subit aucune atténuation par chauffage.

Les gommex extraites par l'eau ne prennent aucune coloration par l'iode.

On tente alors l'extraction du glycogène par la potasse.

Les algues, ne fournissant plus, par extraction aqueuse, que des quantités minimex de gomme, sont séchées, broyées avec du sable et soumises plusieurs fois, pendant trente minutes, à l'action de la potasse bouillante, à la concentration de 5 %.

On obtient un liquide brun, visqueux, que l'on décante.

1° Une partie est traitée selon la méthode indiquée par AUGIER (2) : on neutralise par HCl, on défèque par l'acétate basique de plomb.

Le glycogène doit se retrouver dans le filtrat et être séparé par précipitation alcoolique.

Or, le filtrat concentré, additionné d'alcool absolu, ne donne aucun précipité, dévie très faiblement à droite, et, soumis à l'hydrolyse acide, ne subit aucun changement.

La défécation a entraîné la gomme, et le liquide restant ne contient pas de glycogène.

2° Le reste du liquide d'extraction alcaline, neutralisé, non déféqué et non précipité par l'alcool, est soumis à l'action de la pancréatine Choay. Cette diastase, très active sur le glycogène, n'effectue aucun changement, même après plusieurs semaines, sur le produit extrait des rivulaires.

Si les algues ne contiennent qu'une très petite quantité de glycogène, il est possible que la défécation l'ait entraînée et que la précipitation par l'alcool ne puisse se faire.

On étudie alors les extractions alcalines successives, jusqu'à dissociation totale du thalle.

Les algues sèches, broyées, sont traitées à l'ébullition KOH 10%.

1^{re} Extraction. — La structure des algues n'est pas modifiée; la gomme extraite, très épaisse, brune, ne donne aucune réaction à l'iode.

Hydrolysée par 2 % de SO^4H^2 , elle fournit les résultats suivants :

	Temps	$\alpha \text{ l} = 2$	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie . . .	30 m.	$+2^\circ 2'$	—	—
	1 h.	$+2^\circ$	0,250	
	1 h. 30	$+1^\circ 8'$	0,375	
Autoclave 120°.	2 h.	$+1^\circ 4'$	0,500	106
	2 h. 30	$+0^\circ 56'$	0,525	88
	3 h.	$+0^\circ 54'$	0,575	
	3 h. 30	$+0^\circ 52'$	0,600	72
	4 h.	$+0^\circ 50'$	0,625	67

La transformation se fait lentement. Le pouvoir rotatoire final $\alpha_D = +67^\circ$ est plus élevé que celui de la gomme extraite à l'eau.

Les produits d'hydrolyse neutralisés ne donnent pas l'osazone du glucose.

Cette même gomme précipite par l'alcool en une masse fibreuse, qui se redissout incomplètement dans l'eau. La nouvelle solution hydrolysée avec 2 % d'acide donne des résultats se rapprochant davantage des gommes déjà étudiées.

	Temps	$\alpha \text{ l} = 2$	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie 100°	60 m.	$+1^\circ 16'$	0,220	—
	1 h. 30	$+0^\circ 52'$	0,400	
	2 h.	$+0^\circ 50'$	0,460	
Autoclave 120°	2 h. 30	$+0^\circ 48'$	0,520	
	3 h.	$+0^\circ 44'$	0,600	60
	3 h. 30	$+0^\circ 44'$	0,600	

2^e et 3^e Extractions. — Les études faites sur les deux extractions suivantes n'apportent pas de précision sur la présence du glycogène.

Les gommex extraites dans ces conditions ne prennent aucune coloration à l'iode, ne se transforment pas sous l'influence des diastases pancréatiques.

La gomme provenant de la deuxième extraction s'hydrolyse très lentement.

En trois heures, à 100°, la déviation passe de +2°32' à +0°56; elle baisse à +0°50 après trente minutes à 120°; le réducteur atteint 1,25 %, le pouvoir rotatoire :

$$[\alpha_D] = +67^\circ$$

La gomme provenant de la troisième extraction se transforme plus vite, et ses produits d'hydrolyse ont un pouvoir rotatoire de +60°.

Après trois extractions à la potasse, gaines et cellules sont intactes; ces dernières sont de taille très exigüe; la gomme épaisse qui les entoure peut être un obstacle à la diffusion du glycogène.

On essaie de traiter l'algue même par SO^4H^2 à 2 %.

	Temps	$\alpha \text{ } l = 2$	Réduct. %	
Bain-marie 100°	30 m.	+1°32'	—	
	1 h.	+1°32'	—	
Autoclave 120°	1 h. 30	+1°	0,475	
	2 h.	+0°58'	0,575	
	2 h. 30	+0°54'	0,600	
	3 h.	+0°52'	0,625	
	3 h. 30	+0°50'	0,625	$[\alpha_D] = +67^\circ$

Le résultat ne diffère pas des précédents.

En résumé, la potasse a permis d'extraire une nouvelle quantité de gomme plus ou moins différente de la gomme extraite à l'eau.

Quant au glycogène, si la cellule en élabore, ce doit être en quantité si minime que l'extraction en devient impossible.

AUTOLYSAT

Trois lots de chacun 100 gr. de rivulaires nettoyées et essorées ont été mis dans 450 cm³ d'eau distillée sous toluène. On cherche à

mettre ainsi en évidence les propriétés hydrolysantes des cellules. L'étude de l'autolysat s'est faite après deux et trois ans.

Les algues ne sont pas dissociées; les gaines sont intactes.

On décante un liquide sirupeux, jaune, à odeur d'iodoforme; cet extrait est neutre; quelques gouttes d'acide phosphotungstique suffisent pour l'éclaircir.

Sa déviation est :

$$\alpha = +0^{\circ}50' \text{ (l=1 dm.)}$$

Il ne contient que :

$$R=0,11 \%$$

quantité de réducteur calculé en glucose, très inférieure à ce qu'aurait donné le tréhalose, s'il était totalement hydrolysé.

Après trois ans, mêmes résultats :

$$\alpha = +1^{\circ}6' \text{ (l=1 dm.)} \quad R=0,12 \%$$

Il semble bien que la plus grande partie de la gomme ait résisté à l'autolyse.

Pour savoir ce qu'est devenu le tréhalose, le liquide est déféqué à fond par l'acide phosphotungstique.

On élimine la gomme. On obtient après neutralisation et concentration une liqueur qui dévie de :

$$\alpha = +0^{\circ}48' \text{ (l=2)} \quad R=0,13 \%$$

Le pouvoir rotatoire, calculé avec ces données, est très élevé : -300° ; il indique que la solution contient, en dehors d'une petite quantité de sucre réducteur, un corps dextrogyre non réducteur.

L'hydrolyse à l'autoclave à 120° par 2 % SO^4H^2 donne :

Temps	$\alpha \text{ l} = 2$	Réducteur %	α_D
0	$+0^{\circ}48'$	0,130	60
1 h.	$+0^{\circ}30'$	0,370	
2 h.	$+0^{\circ}28'$	0,380	
2 h. 30	$+0^{\circ}28'$	0,380	

Ce liquide, neutralisé à la baryte, a un pouvoir rotatoire de $+54^{\circ}$, et donne l'osazone du glucose :

$$\alpha = +0^{\circ}16' \text{ (l=2)} \quad R=0,24 \% \quad [\alpha_D] = +54^{\circ}$$

Il ne semble pas que les diastases des algues aient exercé une action importante sur les constituants cellulaires.

Le liquide d'autolysat ne prend aucune coloration avec l'iode; les cellules seules se colorent en jaune.

CONCLUSION

Les recherches effectuées sur *Rivularia bullata* ont montré que ces plantes élaborent un glucide hydrolysable : le *tréhalose*, et une gomme de nature complexe, qui forme la gaine du filament.

Cette gomme, sous l'action des acides, se transforme en produits réducteurs, dans lesquels on a identifié : *Acides uroniques*, *Arabinose*, *Glucose*.

Les algues ne paraissent pas contenir de glycogène, tout au moins à l'époque où l'on a opéré les récoltes.

La potasse extrait de l'algue une gomme dont la composition paraît être différente de celle de la gomme extraite par l'eau.

Les cellules de ces algues ne contiennent que peu de diastases; les autolysats, après un, deux et trois ans, n'accusent pas de sensibles transformations.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE

DE

CALOTHRIX PULVINATA Ag.

Généralités

Le genre *Calothrix* appartient, comme le genre *Rivularia*, à la famille des Rivulariacées; il renferme de nombreuses espèces dont l'habitat est très varié. Certains *Calothrix* recouvrent les pierres, les coquilles, les fragments de verre, d'un enduit velouté allant du vert bronzé au violet pourpre (*Calothrix fusco-violacea*); d'autres sont épiphytes des algues de grande taille ou des zostères (*Calothrix confervicola*, *C. parasitica*).

Les uns vivent dans les eaux marines au niveau de la haute mer, les autres dans les eaux douces, certains sont subaériens.

Calothrix pulvinata Ag., espèce analysée dans ce travail, est subaérienne; elle se trouve au bord de la mer, dans les endroits vaseux, dans les estuaires, où elle reçoit les embruns et où elle peut être recouverte par l'eau en période de vive eau. Au contraire, en morte eau, elle est soumise à l'action de la pluie.

Sur les rochers vaseux ou sur les pilotis, les plaques, d'apparence gris verdâtre, mais bleues à la base, sont formées de filaments dressés, hauts d'environ 2 millimètres, qui sont réunis en petites mèches aiguës donnant ainsi à l'ensemble l'aspect d'un velours grossier.

Une étude microscopique montre que ces filaments sont simples, non agglutinés entre eux par une substance mucilagineuse. Ce sont des tubes flexueux, épais de 15 à 18 μ , colorés en jaune à la base, hyalins vers le sommet. Ils contiennent un trichome articulé vert érugineux.

Les hétérocystes basilaires sont très visibles ; les emboîtements successifs de la gaine sont très peu marqués.

« A des intervalles inégaux, plus rapprochés de la partie supérieure, les filaments adultes présentent des rameaux munis d'un hétérocyste basilaire.

« Tantôt ces rameaux restent accolés au filament principal presque jusqu'au sommet, tantôt ils ne sont appliqués que pendant une partie de leur trajet, tantôt enfin, surtout dans les formes dont les filaments sont peu cohérents, ils divergent presque immédiatement. » (THURET.)

Il n'existe de poil apical que sur les très jeunes filaments. « Le plus souvent, le sommet du filament se termine par quelques débris de cellule avortée, ou quelquefois par une petite cellule hémisphérique à contenu homogène. » (THURET.)

La reproduction se fait par hormogonies, comme dans le genre *Rivularia*.

Le lecteur trouvera tous les détails intéressant cette multiplication des filaments dans les notes algologiques de THURET.

CHAPITRE I

PRÉPARATION DES ALGUES. — DONNÉES MINÉRALES

Les algues récoltées sur les rochers de Chausey doivent être débarrassées de l'épaisse couche de boue qui les enduit.

Au cours de la première récolte, elles ont été nettoyées à l'eau de mer, placées sur un fin tamis, secouées dans l'eau, puis essorées dans un linge; elles ont été divisées en deux lots.

Une petite quantité destinée à la recherche des substances minérales a été séchée à l'ombre et transportée telle quel, le reste, placé sous alcool absolu, a été fixé au laboratoire.

Le premier lot, d'apparence propre, est soumis à l'incinération : il donne 63 % de cendres, de couleur ocracée, renfermant des paillettes de mica.

3 gr. 06 d'algues à 110° donnent 1 gr. 934 de cendres.

L'acide chlorhydrique à chaud détermine la formation d'une masse gélatineuse, indice de la présence d'une forte quantité de silice.

Il semble bien que le nettoyage effectué sur place soit insuffisant : la boue durcie entre les filaments ne cède que difficilement; d'autre part, le lavage à l'eau de mer ne paraît pas indispensable, les algues étant aussi souvent mouillées d'eau de pluie que d'eau salée.

Sur un lot d'algues séchées sans aucun lavage, on essaie le nettoyage à l'eau douce.

Pour obtenir un résultat satisfaisant, il faut amollir les algues et la boue par une macération dans l'eau. Ce traitement est long, il détermine la fragmentation des filaments, le trichome tend à sortir de la gaine et à se briser en tronçons.

L'analyse de l'eau de lavage révèle une petite quantité de réducteur.

Les algues ainsi nettoyées ont 40 % de cendres, dont 6 % de cendres solubles.

3 gr. 12 d'algues séchées à 110° donnent :

0,062 cendres solubles.

1,185 cendres insolubles.

1.247 cendres totales, soit 40 %.

Mais ce traitement présente de sérieux inconvénients; il est inapplicable à de grandes quantités d'algues et aux échantillons mis sous alcool au moment de la récolte.

On a utilisé le procédé suivant pour la seconde récolte. Les algues sont transportées sous alcool.

Au laboratoire, on les lave avec l'alcool à 80° qui a servi au transport, et auquel on ajoute de l'alcool de même titre en quantité suffisante pour l'opération.

Les *Calothrix*, maintenus sur un tamis, sont totalement immergés dans l'alcool; en agitant doucement le tamis, la boue tombe peu à peu au fond d'un récipient. On recueille l'alcool, on le filtre sur Buchner, on lave la boue à l'alcool 80°, et on recommence l'opération autant de fois qu'il est nécessaire, avec le même alcool.

Ce traitement présente de grands avantages sur le lavage à l'eau. Il peut se prolonger sans amener une fermentation, le titre alcoolique étant assez élevé pour arrêter l'action des micro-organismes; les filaments résistent à ce lavage; il semble que l'alcool resserre la gaine et évite la fragmentation du trichome.

Au cas où une substance se serait solubilisée au cours de l'opération, on amène l'alcool au titre 85° et on s'en sert pour fixer la récolte.

Algues et alcool sont desséchés dans une capsule à 110°. Le pourcentage des cendres est de 39 gr. pour 100 gr. d'algues.

1° Teneur en cendres.

2 gr. 77 d'algues séchées à 110° donnent 1 gr. 10 de cendres, soit 39 %.

Cendres solubles. . . 0 gr. 066, soit 6 % du poids des cendres.

Cendres insolubles. 1 gr. 034, dont 0 gr. 715 de silice (65 %).

2° Alcalinité.

L'alcalinité soluble correspond à $5 \text{ cm}^3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{N}{10}$ pour 1 gr. d'algues.

L'alcalinité insoluble correspond à $37 \text{ cm}^3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{N}{10}$ pour 1 gr. d'algues.

Le rapport de ces deux alcalinités est environ de $\frac{1}{7}$.

3° *Teneur en azote.*

Le dosage effectué suivant la méthode de Kjeldahl a donné les résultats suivants :

6 gr. 7 d'algues séchées à 110° contiennent 0 gr. 104 d'azote, soit 1,5 %, ou 9,3 % en protides. Si l'on tient compte de 40 % de cendres, le pourcentage d'azote s'élève à 2,6 %.

CHAPITRE II

EXTRAITS ALCOOLIQUES : GLUCIDES

I. — PRÉPARATION DU LIQUIDE A ÉTUDIER

Les algues nettoyées aussi vite que possible sont fixées par une ébullition de trente minutes dans l'alcool à 90°.

Après filtration, on distille l'alcool sous vide. Le résidu est bourbeux, épais, impossible à filtrer, même sur Buchner.

Le sous-acétate de plomb, l'acide phosphotungstique y déterminent un précipité qui reste longtemps en suspension et qui éclaircit mal le liquide : le toluène à froid entraîne partiellement une substance jaune, de consistance huileuse, qui semble être l'obstacle aux filtrations et aux défécations.

Le résidu de la distillation est alors desséché prudemment sous vide; l'opération est pratiquée par petites portions, afin de la pousser aussi loin que possible sans élévation de température.

Le produit sec est repris par l'éther bouillant; on filtre une solution très épaisse, vert foncé.

L'éther évaporé, il reste une substance soluble dans le chloroforme, l'alcool, partiellement soluble dans l'eau. La liqueur ainsi obtenue est lévogyre.

$$\alpha = -0^{\circ}14' (d=2)$$

Elle ne subit pas l'action de l'émulsine.

Une étude plus précise permettra seule de déterminer ce corps.

La partie insoluble dans l'éther est reprise par l'eau distillée; le liquide filtre facilement et passe limpide.

On a indiqué, à propos des rivulaires, les difficultés rencontrées par l'usage des défécants dans les solutions renfermant des chlorures.

Le procédé suivant a donné de bons résultats : la liqueur, dé-

barrassée des substances lipidiques, est déféquée partiellement à l'acide phosphotungstique (de 2 à 5 cm³ dans 100 cm³ de liquide) ; on neutralise à la baryte en vérifiant rigoureusement la disparition totale du tungstène (1) et de la baryte libre (courant de CO²).

Au filtrat très clair, neutre, on ajoute de la zéolithe argentine; le contact est maintenu, à l'obscurité, pendant plusieurs jours. Sur une liqueur suffisamment déféquée, la zéolithe agit bien, mais lentement; une agitation continue du mélange faciliterait beaucoup l'action et ferait gagner du temps.

On distingue dans le flacon deux couches très nettes : au fond, la zéolithe, blanc grisâtre, et au-dessus, la couche floconneuse très blanche de chlorure d'argent.

Lorsque l'opération est terminée, c'est-à-dire lorsque le liquide surnageant ne donne plus de précipité avec NO³ Ag., on décante, on lave la zéolithe et on fait passer dans la solution un courant de H²S, qui précipite la petite quantité d'argent colloïdal à l'état de sulfure.

La solution concentrée sous vide défèque très bien au sous-acétate de plomb, quelques gouttes suffisent.

II. — RECHERCHE DES SUBSTANCES CONTENUES DANS LES EXTRAITS ALCOOLIQUE

Après défécation par le sous-acétate de plomb et élimination de l'excès de réactif par H²S, on a une solution *dextrogyre* dont la rotation rapportée à 100 cm³ de solution pour 100 grammes de plantes fraîches est de :

$$\alpha = [+0^{\circ}12' (l=2) \lambda=5980]$$

Plusieurs extractions alcooliques sont nécessaires pour enlever en totalité le principe *dextrogyre* :

1 ^{re} extraction	+ 1°4'
2 ^e —	+ 0°17'
3 ^e —	+ 0°10'
4 ^e —	+ 0°2'

Deux extractions sont suffisantes lorsque les algues, au préalable broyées, sont exprimées par une énergique pression après chaque opération.

(1) A une petite quantité de la liqueur, on ajoute une parcelle de zinc et une goutte de SO⁴H²; l'hydrogène naissant donne, quand il y a du tungstène, une coloration bleue très nette.

La liqueur ne contient ni polyols, ni saccharose, ni floridoside, les recherches ayant été faites selon les procédés indiqués à propos des rivulaires.

A. — SUCRES RÉDUCTEURS SIMPLES

Les différents dosages effectués suivant la méthode de G. BERTRAND ont donné de 0 gr. 030 à 0 gr. 060 de réducteur calculé en glucose pour 100 grammes d'algues fraîches.

Poids d'algues fraîches	Volume de la solution aqueuse	Quantité totale du sucre réducteur	Sucre réducteur pour 100 gr. d'algues
78 gr.	25 cm ³	0 gr. 025	0,032
277 gr.	100 cm ³	0 gr. 130	0,060
1.500 gr.	250 cm ³	0 gr. 350	0,023
			après défécation au S/Ac de Pb.

Ces proportions ont été calculées sur des liqueurs d'extraction n'ayant subi aucune manipulation chimique; on a pu, en effet, observer que le séjour plus ou moins prolongé, au contact de la zéolithe argentique, élevait parfois le pourcentage de réducteur jusqu'à 0,120.

Ce sucre réducteur, en solution concentrée, a donné avec la phénylhydrazine une osazone à chaud ayant tous les caractères de la glucosazone.

Soumis à l'action de HCN en présence de KCN, il disparaît en vingt-quatre heures. Les solutions utilisées contenaient : l'une 0 gr. 133, l'autre 0 gr. 150 de sucre dans 100 cm³.

En vingt-quatre heures, la rotation a baissé dans l'un et l'autre cas de 0°8', et le réducteur a totalement disparu. Dans ces conditions, on sait que KCN agit sur les sucres aldéhydiques et les fait passer à l'état d'alcool inactif.

Il est difficile de fixer l'origine de cette petite quantité de réducteur.

Il ne paraît pas qu'une fermentation ait pu se produire, ni sur place, ni au cours du transport.

Les algues sont normalement émergées; elles subissent, sur le rocher même, l'action de l'eau de pluie, de l'eau de mer, et une dessiccation assez avancée; elles sont donc très résistantes du fait de ce genre de vie; transportées sous alcool absolu, fixées dans les vingt-quatre heures, elles étaient en parfait état.

10 grammes d'algues séchées sur place ont été soumis, plusieurs jours après la récolte, à une ébullition prolongée dans l'alcool à 85°; on a trouvé 0 gr. 035 % de réducteur; donc, la dessiccation n'amène aucune transformation.

Des algues non fixées ont été soumises, pendant trois jours, à des alternatives d'humidification et de dessiccation; le pourcentage de réducteur est de 0,036 %.

Il semble bien que ce réducteur provienne normalement de la plante, d'ailleurs, la proportion trouvée dans les *Calothrix* se rapproche sensiblement de celle constatée dans les rivulaires, les différences observées pouvant provenir d'un poids frais calculé dans des conditions non comparables.

B. — SUCRE HYDROLYSABLE : TRÉHALOSE

La rotation dextrogyre observée dans les liquides d'extraction alcoolique ne vient pas de la très faible quantité de réducteur, elle subsiste lorsque ce sucre disparaît par action de HCN. On peut admettre que la liqueur contient un sucre complexe.

1° Action des acides.

En trente minutes, à 130°, et avec 2 % en poids d'acide sulfurique, la rotation baisse de plus de moitié. Après une heure, l'hydrolyse est finie et la rotation finale est environ le tiers de la rotation primitive. Le réducteur augmente progressivement. Le pouvoir rotatoire final est de +51°.

A 120°, l'hydrolyse se termine en une heure quinze.

Opération faite à l'autoclave à 130°			
Temps	Déviati ⁿ l = 2	Réducteur %	[α_D]
0	+0°54'	0	—
30 m.	+0°26'	0,250	—
1 h.	+0°17'	0,275	51
1 h. 30	+0°17'	0,275	—

Si l'on compare cette action à celle effectuée par 2 % d'acide sulfurique à 120° sur du tréhalose pur, on peut remarquer l'identité des deux opérations.

Temps	α ($l=2$)	Réducteur ‰	$[\alpha_D]$
0	$+5^\circ 5'$	1,39 ‰	52
30 m.	$+2^\circ 8'$		
1 h.	$+1^\circ 34'$		
1 h. 30	$+1^\circ 26'$		

Le pouvoir rotatoire initial, obtenu en supposant la transformation totale du produit en sucre réducteur (glucose), est de 163 ($[\alpha_D]$ du tréhalose anhydre $+197^\circ$, hydraté $+177^\circ$).

AUTRES EXPÉRIENCES

Déviation initiale	Déviation finale après 1 h. 15' à 120°	S. réducteur en glucose	$[\alpha_D]$
—	—	—	—
$+0^\circ 48'$	$+0^\circ 16'$	0,265	50
$+0^\circ 34'$	$+0^\circ 12'$	0,200	50

Le liquide d'hydrolyse, neutralisé à la baryte, est additionné d'acétate de phénylhydrazine, il donne au bain-marie bouillant, et exclusivement, l'osazone caractéristique du glucose, dont on a pris le point de fusion 230° au tube capillaire.

2° Action des poudres fermentaires.

La poudre de *Mucor* agit particulièrement sur le liquide sucré. Après trois mois, en milieu aseptique, le pouvoir rotatoire est au voisinage de $+90^\circ$.

Temps initial. . .	$+1^\circ 44'$	$(l=2)$	Réducteur ‰=0,540	$[\alpha_D]=+91^\circ$
— 5 jours.	$+1^\circ 22'$			
— 15 jours.	$+1^\circ 2'$			
— 3 mois.	$+1^\circ$			

La poudre d'*Aspergillus niger* détermine la transformation totale d'un liquide bien exempt de baryum.

α (l=2)			
0.....	+1°18'	0	
24 heures.....	+0°46'	—	
48 heures.....	+0°38'	—	
8 jours.....	+0°36'	—	
15 jours.....	+0°30'	0,425	$[\alpha_D] = +58^\circ$

Ce liquide, déféqué au sous-acétate de plomb et soumis à l'acétate de phénylhydrazine, donne l'osazone du glucose.

CONCLUSION

Les résultats précédents : présence d'un corps dextrogyre à forte rotation, ne possédant aucun pouvoir réducteur et susceptible de fournir du glucose sous l'influence des acides et de certaines poudres fermentaires, permettent de penser que les *Calothrix* renferment, comme les Rivulaires, du tréhalose.

Il a été impossible, jusqu'à présent, d'obtenir ce corps à l'état pur et de le faire cristalliser, les solutions n'en renfermant que très peu : moins de 1 %.

CHAPITRE III

EXTRAITS AQUEUX

COMME DE CALOTHRIX PULVINATA

RECHERCHE DU GLYCOGÈNE

Les algues ne contenant plus de glucides solubles dans l'alcool abandonnent, lorsqu'on les traite à l'eau bouillante, une substance visqueuse, brune, qui s'épaissit vite en refroidissant. La filtration ne peut s'effectuer qu'en solution très diluée, et en procédant par petites fractions sur un Buchner à courant d'eau chaude.

I. — PROPRIÉTÉS DU LIQUIDE

L'extrait filtré est *dextrogyre* ($\alpha = +0^{\circ}30' l=2$), il n'est pas réducteur, il précipite par les défécants ordinaires, sous-acétate de plomb, baryte, acide phosphotungstique.

L'alcool y coagule la gomme en une volumineuse masse grise.

II. — ETUDE DES CENDRES

1° *Quantité de cendres.*

Cette gomme fournit une proportion de matières minérales atteignant 23,5 %.

1 gr. 23 de gomme séchée à 110° donnent 0 gr. 287 de cendres:

Cendres solubles . . . 0 gr. 201, soit 70 % du poids total des cendres.

Cendres insolubles . . 0 gr. 085, soit 30 % du poids total des cendres.

2° Alcalinité.

Pour 1 gr. 23 de cendres, l'alcalinité soluble correspond à $2 \text{ cm}^3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$.

Pour 1 gr. 23 de cendres, l'alcalinité insoluble correspond à $16 \text{ cm}^3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$.

Le rapport des bases solubles aux bases insolubles est $\frac{1}{8}$. Dans l'algue, ce rapport était de $\frac{1}{7}$.

La gomme de *Calothrix* contient une forte proportion de sels solubles, mais qui sont surtout des sels neutres.

III. — TENEUR EN AZOTE

Le dosage effectué suivant la méthode de Kjeldahl donne les résultats suivants :

4 gr. 727 de gomme séchée à 110° contiennent 0 gr. 066 d'azote, soit 1,41 % d'azote ou 8,8 % calculés en protides.

IV. — PURIFICATION DE LA GOMME

Les procédés utilisés pour la purification de la gomme de *Rivularia* n'ont pas donné, en les appliquant à celle de *Calothrix*, des résultats satisfaisants.

La floculation des substances albuminoïdes par HCl à la concentration de 0,5 % se fait mal : après vingt-quatre heures, le dépôt est insignifiant.

On a essayé le procédé suivant : la solution visqueuse de gomme est concentrée à l'air à la température de 50° . L'opération est très lente, même lorsqu'on active l'évaporation par un jet d'air comprimé ; il faut procéder par très petites fractions de liquide pour éviter l'envahissement par les micro-organismes. (L'évaporation ne peut se faire sous pression réduite, par suite de la formation d'une mousse abondante.) La gomme sèche est alors reprise par l'alcool à 50° , qui en dissout une fraction très importante. Le produit, après distillation de l'alcool, se dessèche et se pulvérise facilement. Il contient encore 13 % de cendres et 1,1 % d'azote (7 % en protides).

0 gr. 510 de gomme séchée à 110° donnent 0 gr. 067 de cendres :

Cendres solubles . . . 0 gr. 056, soit 83 % du poids des cendres.

Cendres insolubles . . 0 gr. 011, soit 17 % du poids des cendres.

La purification est très imparfaite, plusieurs opérations seraient nécessaires; la faible quantité de substance dont on dispose ne permet pas de renouveler plusieurs fois le procédé.

V. — ACTION DES ACIDES

L'étude a porté sur la gomme brute et le produit purifié.

Les résultats trouvés sont identiques, mais tandis que l'on peut suivre facilement l'hydrolyse du produit traité par l'alcool à 50°, on se heurte à des difficultés de lectures polarimétriques avec les produits bruts.

Au bain-marie bouillant, quelle que soit la proportion d'acide utilisée, de 2 à 5 %, la transformation est incomplète : après deux heures, le pouvoir rotatoire des produits d'hydrolyse, calculé en fonction de la déviation et du réducteur formé, est au voisinage de +60°.

Il faut une température de 120° pour amener l'opération à son terme; à ce moment, le pouvoir rotatoire s'abaisse vers +46°.

Gomme brute : 4 gr. 1 dans 150 cm ³ - SO ⁴ H ² 2 o/o				
	Temps	α l = 1	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie.	60 m.	illisible	—	—
	1 h. 30	+0°38'	0,700	85
	2 h.	+0°34'	0,810	—
	2 h. 30	+0°32'	0,883	60
Autoclave 120°.	3 h.	+0°25'	0,923	46

Gomme purifiée : SO ⁴ H ² 2 o/o				
	Temps	α l = 2	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie.	60 m.	illisible	—	—
	1 h. 30	+0°48'	0,450	—
	2 h.	+0°46'	0,550	—
	2 h. 30	+0°44'	0,620	60
Autoclave 120°	3 h.	+0°38'	0,650	46

D'autres hydrolyses effectuées sur la gomme purifiée ont confirmé ces résultats.

Voici un autre exemple :

En deux heures, au bain-marie, la déviation passe de $+1^{\circ}32'$ à $+1^{\circ}20'$, et le réducteur atteint la proportion de 1,1 %, d'où $[\alpha_D] = +60^{\circ}$: trente minutes d'autoclave suffisent pour terminer la transformation.

$$\alpha = +1^{\circ}14' \quad (l=2) \quad R \% = 1,300 \quad [\alpha_D] = +45^{\circ}$$

Il est impossible de suivre la déviation et d'effectuer un dosage, dans la première partie de l'opération, les liquides étant troubles et surtout très visqueux.

VI. — IDENTIFICATION DES PRODUITS FORMÉS

Le liquide provenant de l'hydrolyse acide est neutralisé au CO^3Ba ; après séparation du précipité de SO^4Ba et concentration sous vide, on additionne d'un volume d'alcool absolu.

1° On obtient un précipité blanc, peu abondant, qui se redissout rapidement dans l'eau froide.

La solution réduit à froid, après quelques heures, la liqueur de Fehling; elle se colore en jaune par la soude et donne un léger précipité jaune avec la baryte.

Elle ne recolore que d'une façon très fugitive la liqueur de Fellenberg (1).

Ce réactif incolore prend une forte et immédiate coloration rouge avec l'acide galacturonique, coloration qui ne se produit que très lentement, après quelques heures, avec l'acide glycuronique.

Elle prend, lorsqu'on la traite au bain-marie bouillant par la naphthorésorcine, en milieu chlorhydrique, une belle fluorescence verte et fournit un précipité bleu noir, qui se dissout dans l'éther en une liqueur violette.

Lorsqu'on évapore la solution éthérée, on obtient un dépôt bleu indigo, qui se dissout rapidement dans le chloroforme et partiellement dans le benzène.

Ces différentes réactions permettent de supposer la présence

(1) Solution de Fellenberg :

$$\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ gr. fuschine,} \\ 12 \text{ gr. sulfite de soude cristallisé,} \\ 100 \text{ cm}^3 \text{ SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{4}. \\ \text{Eau q. s. pour 1 litre.} \end{array} \right.$$

d'uronates de baryum dans le liquide d'hydrolyse, et, par conséquent, d'acides uroniques dans la gomme de *Calothrix*.

La trop faible quantité de produit obtenu ne permet pas la purification, et, par conséquent, la caractérisation de cet acide. Les réactions précédentes permettent seulement de supposer la présence de l'acide glycuronique ou mannuronique.

Un dosage de CO^2 effectué sur la gomme purifiée confirme la présence de ces acides.

0 gr. 509 de gomme, extraite à l'alcool à 50° et bien exempte de carbonates, soumis à l'action de HCl 18 % pendant sept heures, donnent 7 % de CO^2 .

Une deuxième expérience effectuée sur une gomme moins purifiée a donné 5 % de CO^2 .

2° Le liquide d'hydrolyse, débarrassé du précipité d'uronates, doit contenir les sucres formés; on met à sec sous pression très réduite, et le résidu est repris par l'alcool 90° bouillant.

Un dépôt brun insoluble dans l'alcool est ainsi isolé, dépôt ayant les caractères des uronates de baryum : ces derniers n'ont donc précipité que d'une façon très imparfaite.

Après décantation et distillation de l'alcool, le sirop est repris par l'eau. La solution est dextrogyre; son pouvoir rotatoire est de $+45^\circ$, c'est-à-dire très voisin de la liqueur totale : traitée par l'acétate de phénylhydrazine, elle donne, à chaud, l'osazone du glucose et des cristaux en aiguilles lancéolées, que l'on peut rapprocher de ceux de la galactosazone.

La liqueur sucrée est alors oxydée par NO^3H . Pour cela, on la concentre à l'état de sirop et on traite à chaud par l'acide azotique de densité 1,12. Après obtention de vapeurs nitreuses, on chasse doucement l'excès d'acide.

Le résidu repris par l'eau laisse déposer une petite quantité de fins cristaux du système clinorhombique, qui se solubilisent dans l'ammoniaque et que l'on identifie par là à l'acide mucique.

La présence du galactose se confirmant, on peut supposer que le sucre qui l'accompagne dans une liqueur, dont le pouvoir rotatoire est $+46^\circ$ et qui fournit la glucosazone, est du mannose.

Les proportions des deux sucres dans cette liqueur seraient de : une partie de galactose pour quatre parties de mannose.

VII. — FRACTIONNEMENT DE LA GOMME

La transformation, sous l'influence des acides, semble se faire en deux étapes :

1° En une heure, au bain-marie bouillant, il apparaît près des trois quarts du réducteur, puis l'opération progresse lentement et s'arrête quand le pouvoir rotatoire est $+60^\circ$.

2° Trente minutes d'autoclave sont nécessaires pour obtenir la transformation totale.

On essaie d'isoler les produits formés après une heure, puis en fin d'hydrolyse au bain-marie, afin de fractionner la gomme et d'en préciser les constituants :

A. — Après une heure, la filtration et la lecture polarimétrique deviennent possibles, la viscosité ayant diminué : à ce moment, le $[\alpha_D]$ du liquide acide est $+80^\circ$.

a) Une partie du produit est neutralisée avec la baryte et CO^3Ba . Le filtrat a un pouvoir rotatoire de $+46^\circ$; la neutralisation s'est accompagnée d'une défécation qui a entraîné la gomme non hydrolysée; les produits formés sont identiques à ceux trouvés en fin d'hydrolyse.

b) Le reste du liquide acide est additionné d'un volume d'alcool absolu; on espère recueillir ainsi, dans le précipité, la gomme non transformée; dans le filtrat, un produit déjà modifié et ne précipitant plus par l'alcool.

Le précipité floconneux blanc se dissout dans l'eau; la solution dévie de $+0^\circ 10'$ ($l=2$), mais ne subit aucun changement quand on la traite par les acides. On ne se trouve pas en présence de gommés, mais d'impuretés ayant entraîné une petite quantité de sucre.

Le filtrat traité par 2 % SO^4H^2 donne les résultats suivants :

	Temps	$\alpha \text{ } l=2$	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie. . . .	0	$+1^\circ$	—	
	30 m.	$+0^\circ 58'$	—	
	1 h.	$+0^\circ 58'$	—	
Autoclave 120° .	1 h. 30	$+0^\circ 54'$	1	45

résultats identiques à ceux que l'on obtient avec la gomme totale.

Après une heure, il ne reste plus de gomme précipitable par l'alcool — la transformation se produit graduellement.

B. — On étudie les produits formés en fin d'hydrolyse au bain-marie.

5 gr. 85 de gomme extraite par l'alcool à 50° sont d'abord laissés huit jours sous éther pour dissoudre les corps gras.

	Temps	α (l=2)	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie. . . .	0	illisible	—	—
	1 h.	d°	0,750	—
	1 h. 30	+1°22'	0,850	—
	2 h.	+1°18'	0,900	—
	2 h. 30	+1°16'	0,950	—
	3 h.	+1°14'	1	+60°
	3 h. 30	+1°14'	1	

Le liquide neutralisé et très concentré

$$[\alpha] = +2^{\circ}20' \text{ (l=2)} \quad R=1,8 \% \quad [\alpha_D] = +64^{\circ}$$

est additionné d'alcool absolu. Un précipité floconneux, volumineux, très adhérent aux parois des vases, est recueilli sur Buchner et lavé à l'alcool.

1) Le filtrat (alcool évaporé) a un pouvoir rotatoire de +50°.

$$\alpha = +3^{\circ}28' \text{ (l=2)} \quad R=3,4 \% \quad [\alpha_D] = +50^{\circ}$$

Il ne donne aucune réaction avec la naphtorésorcine, mais une très belle osazone de galactose.

2) Le précipité, qui a entraîné les uronates déjà formés, se dissout très rapidement dans l'eau. La solution a un pouvoir rotatoire très élevé.

$$\alpha = +1^{\circ}46' \text{ (l=2)} \quad R \% = 0,850 \% \quad [\alpha_D] = +103^{\circ}$$

Elle donne, avec la naphtorésorcine et l'éther, une réaction très intense; traitée par 2 % SO^4H^2 , elle fournit les résultats suivants :

	Temps	α l=2	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
A 100°	0	+1°46'	0,850	—
	30 m.	+1°46'	—	—
A 110°	1 h.	+1°34'	1,4	—
A 120°	1 h. 30	+1°24'	1,45	48

On retrouve les chiffres déjà indiqués à propos de l'étude de la gomme totale; en fin d'hydrolyse au bain-marie, il reste une substance incomplètement hydrolysée, mais dont la composition n'est pas différente de celles qui ont été transformées.

CONCLUSION

Les expériences précédentes semblent indiquer que la gomme de *Calothrix* est homogène.

Elle doit être formée d'un noyau d'acides uroniques et de sucres simples, dont l'un : le galactose, a été identifié par son osazone et par l'acide mucique qu'il fournit par oxydation nitrique.

Il est probable que le mannose complète cette composition. On peut observer que la gomme de *Calothrix* présente le même type de composition que la gomme de *Rivularia*.

Cependant, cette dernière contient de l'arabinose, que l'on n'a pas trouvé dans la gomme de *Calothrix*.

VIII. — RECHERCHE DU GLYCOGÈNE

Lorsqu'on soumet les *Calothrix* à l'action de l'eau iodée, les cellules prennent une coloration jaune qui, bien que très intense, n'atteint cependant pas le brun acajou.

Afin de mettre en évidence le glycogène, s'il existe dans les cellules, les algues, desséchées et traitées plusieurs fois par l'eau, sont soumises à l'action de la potasse bouillante, à concentration de 8 à 10 %.

1^{re} Extraction. — On obtient une gomme brune, très visqueuse, que l'on précipite par l'alcool après neutralisation. Le précipité fibreux, mis en solution aqueuse et traité par 2 % SO^4H^2 , donne un ensemble de produits dont le pouvoir rotatoire est de $+50^\circ$.

	Temps	$\alpha \text{ } l = 2$	Réducteur o/o	$[\alpha_D]$
Bain-marie.	1 h.	illisible	0,410	
Autoclave.	1 h. 30	—	0,580	
	2 h.	$+0^\circ 50'$	0,630	
	2 h. 30	$+0^\circ 44'$	0,640	
	3 h.	$+0^\circ 40'$	0,660	$+50^\circ$

L'hydrolyse, quoique plus lente, semble se rapprocher de celle de la gomme déjà étudiée.

Les produits libérés sont identiques : acide uronique, glucose, galactose.

La diastase pancréatique n'a aucune action sur cette gomme : les filaments de l'algue, examinés au microscope, montrent des cellules colorables à l'iode et des gaines intactes.

2^e et 3^e *Extractions*. — Les deux extractions suivantes, étudiées séparément, ont donné des résultats identiques, aucune coloration à l'iode, aucune modification avec les diastases, l'hydrolyse acide en est plus rapide que dans l'expérience précédente : en une heure, à 120°, l'opération est finie et l'ensemble des produits a un pouvoir rotatoire de +58. 60.

Un certain nombre de gaines se sont vidées de leur contenu cellulaire, mais les filaments intacts prennent la coloration jaune de l'iode.

4^e *Extraction*. — La dernière extraction dissocie totalement les filaments, la gomme extraite est identique aux deux précédentes ; les produits d'hydrolyse [$\alpha_D = -53^\circ$], traités par l'acétate de phénylhydrazine, donnent à chaud une belle osazone de glucose.

Rien, dans l'étude précédente, ne permet de conclure à la présence du glycogène dans les *Calothrix*.

L'abondante glucosazone obtenue ne permet pas même cette conclusion, car elle peut être fournie par le glucose ou le mannose de la gomme.

Au cours des deux dernières extractions alcalines, un certain nombre de cellules, libérées de la gaine, ont été entraînées avec la gomme ; le glycogène, si toutefois il existe, aurait dû donner à l'ensemble ses caractères spécifiques. D'autre part, on peut admettre que la quantité ainsi extraite est minime, et que la gomme arrête l'action de la diastase.

On tente alors de libérer le glycogène en attaquant la gomme, qui forme la gaine des filaments.

Des recherches faites par GUKA [25], reprises par PICTET, BERNER et PETERSEN, puis appliquées aux algues rouges par GUÉGUEN, il résulte que l'acide orthophosphorique, à froid, dégrade l'amidon et le fait passer à l'état d'amidon soluble. Il est possible que cet acide détermine, dans la gomme de *Calothrix*, une modification suffisante qui permette la diffusion du glycogène.

12 grammes d'algues sèches, broyées, n'ayant jamais subi l'ac-

tion de la potasse, sont mises dans 70 cm³ de PO⁴H³ d=1,71 pendant vingt-quatre heures.

La gaine intacte renferme encore les cellules colorables à l'iode.

La solution phosphorique étendue à 250 cm³ est assez claire pour être étudiée.

$$\alpha = +0^{\circ}12' \text{ (l=2)} \quad R=0,080 \% \quad \alpha_D = +125^{\circ}$$

Une partie neutralisée avec CO³Ca est additionnée de pancréatine. Après plusieurs jours, on ne constate aucune modification. Le reste du liquide concentré, mais sans adjonction d'acide, est porté à 100°.

	Temps	$\alpha \text{ l} = 2$	Réducteur ‰	$[\alpha_D]$
Bain-marie 100°	30 m.	+0°40'	0,200	
	1 h.	+0°30'	0,375	
Autoclave 105°	1 h. 30	+0°28'	0,450	51
	2 h.	+0°28'	—	
Autoclave 120°.	2 h. 30	+0°26'	0,475	45

Ce liquide d'hydrolyse donne une abondante osazone de glucose.

Ces substances libérées par PO⁴H³ sont-elles différentes de celles qu'on obtient avec KOH ? Il est difficile de l'affirmer : la substance qui prend coloration avec l'iode est restée dans la cellule ; on peut espérer l'obtenir maintenant par un traitement à la potasse. Il n'en est rien, le liquide alcalin, neutralisé et légèrement acidifié, ne contient pas de glycoène.

TROISIÈME PARTIE

ETUDE SOMMAIRE DE NOSTOC COMMUNE VAUCHER ET OBSERVATIONS SUR DEUX CYANOPHYCÉES D'EAU DOUCE

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS ET DONNÉES MINÉRALES

I. — DONNÉES MORPHOLOGIQUES

Parmi les différentes espèces qui composent la famille des Nostocacées, la plus connue est certainement *Nostoc commune* Vauch.

Après une période humide, on voit apparaître ces algues sur les sentiers, entre les herbes, sur le gravier du bas côté des routes; elles semblent s'accommoder de terrains assez divers : schistes des Ardennes, grès des Vosges, mais se développent cependant de préférence sur sol calcaire (Jura, falaises crayeuses au voisinage de la mer).

Jeune, *Nostoc commune* forme sur la terre des grains microscopiques. En plein épanouissement, il devient globuleux, ovoïde, quelquefois linguiforme; son thalle muqueux, gélatineux, prend un aspect foliacé, il s'étale en membranes contournées, plissées, creusées, de consistance pulpeuse, mais souvent coriace; sa couleur vert olivâtre devient brune et même jaune sur le pourtour. En se desséchant, le thalle se recroqueville, et bientôt la petite masse brune n'est plus guère visible.

Ce thalle est formé de filaments simples, contournés, enchevêtrés;

les trichomes, épais de 5 à 6 μ , ne se différencient pas en base et sommet et contiennent des hétérocystes intercalaires : ceux-ci sont d'abord de la grosseur des cellules ordinaires, puis ils grossissent et dépassent de 1 à 2 μ la largeur du trichome.

« Quand un hétérocyste est depuis longtemps formé, il s'en produit de nouveaux de chaque côté de lui, soit immédiatement, soit avec interposition d'un article ordinaire. On trouve par conséquent, dans la plupart des Nostocs, des séries de trois à sept hétérocystes. » (THURET.)

Les cellules, décrites par GUILLIERMOND (35), sont constituées par une couche pariétale de cytoplasme contenant le pigment bleu, et par un corps central occupé par un réseau chromatique, sorte de réticulum très resserré à aspect nucléiforme. Des grains de sécrétion, qui naissent au niveau du noyau, constituent des substances de réserve.

« Lorsque la cellule se divise, le corps central s'allonge, s'étrangle au milieu, prend la forme d'un haltère et se coupe en deux masses chromatiques au moment où les rudiments latéraux de la cloison transversale se soudent. » (GUILLIERMOND.) (1).

La reproduction se fait par hormogonies et par spores, mais on admet que ces spores sont des éléments qui représentent en réalité des kystes ou organes de conservation : ce sont des cellules différenciées, entourées d'une membrane épaisse.

Les cellules produisent une gaine mucilagineuse plus ou moins nettement limitée au dehors.

« Souvent, son contour est tout à fait indistinct dans une portion de la fronde, tandis qu'il est marqué, principalement vers la périphérie de la fronde, par un bord tranché et une coloration différente..., les diverses couches qui composent la gaine ne sont pas toujours semblables, les unes sont fermes et colorées, les autres sont molles et indistinctes, quelquefois les nouvelles couches (avec le trichome) sont contournées à l'intérieur des couches anciennes. Souvent la gaine est cylindrique, égale, lisse; dans d'autres cas, elle est toruleuse, c'est-à-dire qu'elle présente une série d'étranglements réguliers de la longueur des articles. » (THURET.)

Si l'on soumet les Nostocs à l'action de l'eau iodée, les cellules prennent une teinte jaune vif, les gaines restent invisibles. Après l'essai du réactif iodé, si on ajoute une goutte d'acide sulfurique concentré, les gaines apparaissent boursouflées, serties d'un trait bleu verdâtre, tandis que la teinte s'estompe de la périphérie vers le centre du fila-

(1) L'étude du Professeur GUILLIERMOND a porté sur le *Nostoc muscorum*, espèce voisine du *Nostoc commune*.

ment; dans l'axe même, la file des cellules apparaît colorée en jaune orangé.

L'acide utilisé seul fait d'ailleurs apparaître la gaine, mais avec moins de netteté.

Cette coloration bleutée, prise exclusivement par la partie externe de la gaine, a été observée par GOMONT et LEMAIRE (37-42). Cet auteur pense d'ailleurs qu'elle n'est pas due à de la cellulose.

« Si on place des coupes du thalle pendant un jour dans une solution alcoolique de KOH caustique, que l'on remplace ensuite par de l'alcool, puis par de l'eau distillée, la zone externe se décolore et le bleuissement par le chloriodure de zinc n'a pas lieu. La cellulose traitée de cette façon n'aurait pas été modifiée et aurait pris la coloration bleue. »

II. — DONNÉES MINÉRALES

1° *Teneur en eau.*

Les Nostocs, récoltés le plus souvent après une journée pluvieuse, ou dans un endroit très humide, sont gorgés d'eau; le thalle emprisonne des débris de toutes sortes (pierres, brindilles de bois, de paille, akènes...). Sitôt la récolte effectuée, un nettoyage minutieux s'impose; les algues sont ensuite essorées sur un linge spongieux, puis sur papier filtre.

20 grammes d'algues, prises à cet état, sont étalés dans une pièce très aérée; après quelques heures, le thalle se dessèche et devient friable; après douze heures, le poids est de 1 gr. 8; à l'étuve 110, il se stabilise à 1 gr. 3.

Les Nostocs, d'après cette expérience, contiennent 92 % d'eau.

2° *Teneur en cendres.*

La recherche des matières minérales s'est effectuée sur des algues de provenances diverses.

On a trouvé de 15 à 20 % de cendres, suivant les échantillons étudiés.

0 gr. 940, poids sec, 110°, donnent 0 gr. 137 de cendres, soit 14,5 %.

0 gr. 710, poids sec, 110°, donnent 0 gr. 100 de cendres, soit 15 %.

3° *Alcalinité.*

Pour 0 gr. 710 d'algues sèches, l'alcalinité soluble dans l'eau correspond à 1 cm³ de SO⁴H² $\frac{N}{10}$ (virage à l'hélianthine).

L'alcalinité insoluble (bases solubles dans l'acide étendu) correspond à 5 cm³ l

Le rapport de l'alcalinité soluble à l'alcalinité insoluble est égal à $\frac{1}{5}$.

4° *Teneur en azote.*

1 gr. 468 d'algues séchées à 110° sont traités par la méthode de Kjeldahl; on a obtenu 0 gr. 041 d'azote, soit 2,8 % en azote ou 17,3 % calculés en protides.

CHAPITRE II

EXTRAITS ALCOOLIQUES. — GLUCIDES

Les algues utilisées ont été récoltées en des régions très différentes et à des époques variant de mai à octobre.

I. — LIQUIDES DE FIXATION (1^{er} Extrait alcoolique)

A) PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES

Les algues ont été fixées à l'alcool fort, selon la technique habituelle.

Quelles que soient la provenance et l'époque des récoltes, les liquides alcooliques de fixation, séparés des algues par filtration sur Buchner, ont un certain nombre de caractères communs.

— Ils sont de couleur jaune, de consistance sirupeuse;

— Ils sont neutres;

— Après distillation de l'alcool, ils laissent un résidu trouble, épais, très coloré, qui ne se clarifie pas par filtration sur papier ordinaire. Il faut utiliser une couche d'amiante pour obtenir une liqueur limpide : le filtre retient alors une substance orangée, cirreuse, que l'on peut dissoudre dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, la benzine (partiellement). Le filtrat défèque mal par le sous-acétate de plomb, il faut employer l'acide phosphotungstique pour clarifier le liquide.

Le sucre réducteur n'atteint, dans ces liqueurs, qu'une très faible proportion : de 0,07 à 0,1 pour 100 gr. de poids sec.

Les recherches effectuées par la méthode de Bertrand et par la méthode photoélectrique ont donné les mêmes résultats.

La sucrase ne détermine aucune transformation : les extraits ne contiennent pas de saccharose.

Les résidus de la distillation alcoolique, n'ayant subi aucune autre opération qu'une filtration, présentent, entre eux, une importante différence.

Les uns L_1 sont lévogyres $\alpha = -1^{\circ}20'$.

Les autres L_2 sont dextrogyres $\alpha = +0^{\circ}28'$

Les déviations, lues au tube de 2 décimètres, sont rapportées à 100 gr. de poids frais dans 20 cm³ de liquide.

B) ETUDE D'UNE LIQUEUR LÉVOGYRE L_1

Les algues utilisées ont été récoltées de mai à fin juin (Charente, Loire-Inférieure, Ardennes).

Le liquide L_1 est déféqué à fond par l'acide phosphotungstique : cette opération a pour but d'éliminer les corps à grosses molécules (gommes, substances albuminoïdes).

La déviation négative subsiste : on a donc un corps lévogyre, soluble dans l'alcool, dans l'eau, et non réducteur.

1. Action des acides.

Au bain-marie bouillant, l'hydrolyse par 1 % en poids d'acide sulfurique s'arrête après deux heures. Il est nécessaire de chauffer trente minutes à 120° pour mener la transformation à son terme. En deux heures et demie, la déviation croît progressivement et le pouvoir rotatoire se fixe à $+67^{\circ}$.

2.000 gr. algues dans 135 cm ³				
	Temps	α 1 = 2	Réducteur %	$[\alpha_D]$
Bain-marie.....	0	$-0^{\circ}12'$	—	—
	30 m.	$+0^{\circ}2'$	—	—
	1 h.	$+0^{\circ}8'$	0,075	
	2 h.	$+0^{\circ}12'$	0,112	
Autoclave.....	2 h. 30	$+0^{\circ}14'$	0,170	67

Une deuxième expérience faite à l'autoclave à 120° (SO⁴H⁺ 2 %) a donné en une heure les résultats suivants :

La déviation passe de $\alpha = -0^{\circ}40'$ ($l=1$) à $\alpha +0^{\circ}20'$.

Le réducteur atteint 0,5 % : le pouvoir rotatoire $= +66^{\circ}$.

Les solutions acides neutralisées et traitées par l'acétate de phé-

nylhydrazine ont donné une osazone en aiguilles plates, qui présente l'aspect de la galactosazone.

2. Fractionnement de L_1 : Purification du produit lévogyre.

Le liquide primitif L_1 , non déféqué, est mis à sec sous vide très poussé, afin qu'aucune élévation de température ne modifie la substance : on obtient ainsi un résidu sec R_1 .

α) *Extrait par l'alcool à 95° froid*

Le résidu R_1 est recouvert d'alcool à 95° froid et laissé pendant quinze jours : une dissolution partielle se produit. Après décantation et distillation de l'alcool, le nouveau résidu repris par l'eau donne une liqueur claire dont la déviation est de :

$$\alpha = -2^{\circ}40' \text{ (} l=2 \text{)}$$

(rotation fournie par 2.000 gr. d'algues dans 45 cm³ d'eau)

La solution diluée à 240 cm³ est hydrolysée par 1 % d'acide SO^4H^2 .

La déviation croît, devient positive, le réducteur augmente progressivement, le pouvoir rotatoire atteint $+75^{\circ}$.

	Temps	$\alpha \text{ } l=1$	Réducteur %	$[\alpha]_D$
Bain-marie 100°.	0	$-0^{\circ}30'$	—	—
	15 m.	$-0^{\circ}8'$	—	—
	45 m.	$+0^{\circ}8'$	0,4	—
	1 h. 15	$+0^{\circ}16'$	0,425	—
	1 h. 45	$+0^{\circ}18'$	—	—
Autoclave.	2 h. 15	$+0^{\circ}22'$	0,480	75

β) *Extrait par l'alcool à 95° bouillant*

Ce qui reste du résidu R_1 , après l'extraction précédente, est repris par l'alcool à 95° bouillant ; l'opération entraîne une nouvelle quantité de substance lévogyre, mais accompagnée de corps gras qui gênent les filtrations.

Après l'évaporation de l'alcool, le nouveau résidu, soluble dans l'eau, donne une solution dont la déviation est de :

$$\alpha = -2^{\circ}4' \text{ (} l=2 \text{)} \text{ (2.000 gr. d'algues dans 45 cm}^3 \text{)}$$

Hydrolysée par 2 % d'acide sulfurique, elle fournit les mêmes résultats que ci-dessus.

En une heure quinze, à 120°, la déviation passe de $\alpha = -1^{\circ}30'$ à $+1^{\circ}18'$; le réducteur % croît de 0,1 à 1,7.

Le pouvoir rotatoire est $= +78^{\circ}$.

Ce qui ne s'est solubilisé ni dans l'alcool froid, ni dans l'alcool bouillant, repris par l'eau et déféqué, donne même en liqueur très concentrée (12 cm³) une déviation nulle.

La substance lévogyre contenue dans le liquide de fixation n'est pas précipitée par les défécants; elle se solubilise facilement dans l'alcool très fort, même à froid, et se transforme sous l'action des acides dilués en produits dextrogyres, dont le pouvoir rotatoire est de $+78^{\circ}$.

La proportion de ce corps, dans 100 gr. d'algues, n'atteint pas 0,5 %, si l'on en juge par le réducteur formé; il devient difficile de l'extraire, de le purifier, et si possible de le faire cristalliser, afin d'en préciser la nature. Il faut attendre de très abondantes récoltes pour mener à bien ces opérations.

3. Action des diastases.

L'essai de différentes diastases n'a fourni aucun renseignement.

La galactosidase très active, provenant d'un autolysat aseptique de levure de brasserie de plus d'un an, reste sans action, alors que le témoin de floridoside passe de $+5^{\circ}$ à $+2^{\circ}30'$ en quelques jours.

L'émulsine, qui hydrolyse les composés du glucose β (COLIN, 16), la glucosidase α , la poudre d'aspergillus, ne déterminent aucune transformation.

Des recherches plus précises doivent être entreprises pour déterminer les meilleures conditions d'action de ces différentes diastases dans le milieu considéré, avant d'affirmer qu'aucune d'elles ne peut agir.

4. Recherche de la mannite.

Un extrait est additionné d'acide arsénieux, suivant la méthode déjà utilisée pour les rivulaires. La déviation négative ne varie pas, même après vingt-quatre heures.

Les extraits lévogyres de Nostocs ne contiennent pas de mannite.

C) ETUDE D'UNE LIQUEUR DEXTROGYRE L_2

Les algues récoltées en août et septembre ont été traitées suivant les mêmes procédés que précédemment.

Une petite fraction de la liqueur L_2 , déféquée à l'acide phosphotungstique, est nettement dextrogyre.

$$\alpha = +0^{\circ}28' (l=2)$$

1. *Extrait par l'alcool à 95°.*

Le liquide L_2 est mis à sec; le résidu R_2 , repris deux fois par l'alcool à 95° bouillant, ne se dissout qu'incomplètement.

Après décantation et distillation de l'alcool, la solution restante dévie de $+0^{\circ}30' (l=2)$ [1.400 gr. d'algues dans 20 cm³].

Hydrolysée à 100° par 2 % d'acide sulfurique, elle donne les résultats suivants : la déviation croît en même temps que le réducteur, le pouvoir spécifique se fixe à $+70^{\circ}$.

	Temps	$\alpha l=2$	Réducteur %	[α_D]
100°	0	$+0^{\circ}30'$	—	—
	30 m.	$+0^{\circ}46'$	—	—
	1 h.	$+0^{\circ}52'$	—	—
	1 h. 30	$+0^{\circ}56'$	—	—
120°	2 h.	$+1^{\circ}$	0,720	70

Si l'on compare cette opération à celle effectuée sur la liqueur L_1 , on constate que les transformations se font dans le même temps, que la courbe d'hydrolyse est identique, mais que les produits formés ont un pouvoir rotatoire moins élevé lorsqu'il s'agit de la liqueur L_2 .

2. *Résidu de l'extraction par l'alcool à 95°.*

La partie du résidu R_2 non soluble dans l'alcool à 95° est reprise par l'eau, la solution déféquée à fond.

Tandis que dans le premier cas étudié (liqueur L_1), il ne semblait plus rester que des traces de substance, on obtient ici, en concentrant à 20 cm³, une liqueur qui donne une déviation de $+3^{\circ} (l=2)$.

Traitée par 2 % d'acide sulfurique, on observe que la déviation décroît, tout en restant positive, passe par un minimum, puis croît. Le réducteur apparaît progressivement, le pouvoir rotatoire est de $+60^{\circ}$.

	Temps	$\alpha \text{ } l = 2$	Réducteur %	$[\alpha_D]$
100°.....	0	- 1°22'	—	—
	30 m.	+ 0°36'	—	—
	1 h.	+ 1°12'	—	—
120°.....	1 h. 30	+ 1°16'	0,990	60

Cette courbe d'hydrolyse est très différente des précédentes. On peut penser que la solution contient un mélange de deux corps.

L'un fortement dextrogyre, dont les produits de transformation ont un pouvoir rotatoire inférieur à + 60°, et qui déterminent, dès le début de l'hydrolyse, une baisse de la déviation de plus de moitié de sa valeur initiale.

L'autre, probablement identique au corps lévogyre précédemment étudié, et qui fournit des produits réducteurs dont la déviation croissante se manifeste en fin d'hydrolyse.

II. — EXTRAITS PAR L'ALCOOL A 85°

Les observations précédentes ont porté sur les liquides de fixation, c'est-à-dire sur un premier extrait alcoolique.

On soumet les Nostocs à des extractions successives par l'alcool à 85°. Les algues laissent diffuser facilement les corps solubles dans l'alcool, et le troisième extrait ne contient plus rien.

On retrouve, dans l'étude de ces solutions, les résultats indiqués précédemment.

A. — Aux liquides de fixation lévogyres correspondent des extraits à rotation négative. Sous l'action des acides dilués, ces liqueurs se transforment en produits réducteurs dont le pouvoir rotatoire est de + 70°. La marche de l'hydrolyse est identique à celle mentionnée à propos de la liqueur L_1 : croissance simultanée de la déviation et du réducteur.

	Temps	$\alpha \text{ } l = 2$	Réducteur %	$[\alpha_D]$
100°.....	0	- 0°14'	—	
	30 m.	+ 0°10'	—	
	1 h.	+ 0°12'		
120°.....	1 h. 30	+ 0°14'	0,160	70

B. — Les extraits, effectués à partir de Nostocs dont les liquides de fixation sont dextrogyres, sont positifs, et leur hydrolyse rappelle celle des résidus de l'extraction par l'alcool à 95° (liqueur L₂).

La déviation baisse, passe par un minimum, puis croît. Le pouvoir rotatoire est de +60°.

	Temps	α 1 = 2	Réducteur %	[α_D]
100°	0	+1°30'	—	
	30 m.	+0°50'	—	
	1 h.	+1°10'	—	
120°	1 h. 30	+1°20'	1,1	60

III. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La différence entre le signe optique des deux extraits considérés peut-elle provenir d'un début de transformation du corps lévogyre ? Les algues étudiées appartenaient à des récoltes très différentes, la fixation en a été aussi rapide que possible; les Nostocs sont des plantes très résistantes, qui supportent de fréquentes alternatives de sécheresse et d'humidité; il ne semble pas que, dans ces conditions, une fermentation ait eu lieu.

L'étude des courbes d'hydrolyse peut suggérer l'hypothèse suivante :

Les Nostocs contiennent deux glucides solubles dans l'alcool, dont les proportions réciproques varient suivant certaines conditions physiques (état d'imbibition, température extérieure) ou suivant l'état du développement (sporulation).

Ces deux glucides résistent aux défécants ordinaires et se transforment, sous l'influence des acides, en produits réducteurs positifs.

L'un, lévogyre, prédomine dans certaines algues et donne alors aux extraits alcooliques son signe optique.

L'autre, dextrogyre (le tréhalose est possible), l'emporte dans d'autres échantillons et rend les extraits positifs.

On peut interpréter les résultats trouvés de la façon suivante :

A. — LIQUEUR LÉVOGYRE L₁

1° *Extrait par l'alcool à 95°.*

Le glucide négatif très soluble passe en majorité; il donne à la

solution son signe optique : ses produits de transformation par action des acides déterminent le sens ascendant de la courbe d'hydrolyse; ils ont un pouvoir rotatoire supérieur à $+70^\circ$.

Le glucide positif, s'il existe, y est en faible proportion.

2° *Résidu de l'extraction par l'alcool à 95° . — Liquide total de fixation.*

Le résidu de la première opération ne contient que des traces de produit; cependant, l'étude du liquide total de fixation et déféqué à fond semble indiquer non seulement la présence du corps négatif qui rend la liqueur lévogyre, mais celle d'une autre substance, qui fournit, au cours de l'hydrolyse acide des produits qui, s'ils ne modifient pas le sens de la courbe, abaissent cependant le pouvoir rotatoire final à $+67^\circ$.

3° *Extrait par l'alcool à 85° .*

L'extrait semble contenir le glucide lévogyre et une faible quantité du principe dextrogyre.

En résumé : Les liqueurs lévogyres L_1 contiendraient une très faible quantité du corps positif : la substance lévogyre y serait à sa plus forte proportion.

B. — LIQUEUR DEXTROGYRE L_2

1° *Extrait par l'alcool à 95° .*

La présence du glucide fortement positif se manifeste par la déviation, à droite, des extraits, mais il y est en faible proportion, car ses produits de transformation par les acides ne parviennent pas à changer le sens de la courbe d'hydrolyse, qui reste ascendante.

Les produits formés ont un pouvoir rotatoire de $+70^\circ$.

2° *Résidu de l'extraction par l'alcool à 95° .*

Le glucide positif prédomine dans cet extrait; il détermine la forte déviation initiale à droite : ses produits d'hydrolyse par les acides ont un pouvoir rotatoire inférieur à $+60^\circ$, ils modifient la courbe d'hydrolyse, qui prend alors la forme d'une parabole avec un minimum.

3° *Extrait par l'alcool à 85°.*

Les deux corps semblent exister dans cet extrait.

En résumé : les liqueurs dextrogyres contiendraient les deux corps, mais une plus forte proportion de glucide positif imposerait le signe optique.

Il serait désirable de pouvoir étudier les Nostocs d'une même région au cours de leur développement et à différentes étapes de leur dessiccation : une culture de ces algues serait intéressante à essayer.

IV. — VÉRIFICATION

A l'occasion d'une très belle récolte effectuée dans le Jura et placée immédiatement sous alcool à 90°, on a pu contrôler les observations précédentes malgré des modifications apportées aux procédés d'étude.

Afin d'éviter les difficultés inhérentes aux graisses et aux cires qui abondent dans ces algues, on a procédé ainsi :

Le liquide alcoolique de fixation a été évaporé à sec à la température de 30° sous un jet d'air comprimé :

La poudre sèche traitée sous Soxhlet :

1° Par l'*éther bouillant* pendant une heure. La solution vert foncé, épaisse, ne livre, après évaporation, aucun corps soluble dans l'eau.

2° Par le *chloroforme*. Le solvant n'entraîne que peu de chose et le résidu de son évaporation est totalement insoluble dans l'eau.

3° Par l'*éther acétique*. On ne recueille aucun hétéroside.

Débarrassée des corps gras, la poudre est remise en solution dans l'eau : la liqueur défèque facilement, sa déviation est $\alpha_D^{20} + 0^{\circ}54'$ $l=2$.

La liqueur remise à sec, on reprend le résidu par l'alcool à 90°.

A. EXTRAIT PAR L'ALCOOL A 90°.

La solution obtenue, l'alcool étant évaporé, présente lorsqu'on l'hydrolyse les caractères déjà constatés avec les extraits par l'alcool à 95° (liqueur L_2), c'est-à-dire une courbe ascendante de la déviation, mais ici, le titre alcoolique étant moins élevé, le produit dextrogyre

passé en plus grande quantité et ses produits d'hydrolyse ralentissent cette marche ascendante : le pouvoir rotatoire final est de $+60^\circ$

Hydrolyse par 2 % d'acide sulfurique				
	Temps	$\alpha_{1=2}$	Réducteur %	$[\alpha_D]$
100°	0	$+0^\circ 40'$	—	$[\alpha_D] = +60$
	30 m.	$+0^\circ 44'$	—	
	1 h.	$+0^\circ 48'$	0,675	
120°	1 h. 30	$+0^\circ 56'$	0,770	

B. RÉSIDU DE L'EXTRAIT PAR L'ALCOOL A 90° .

Ce résidu, mis en solution dans l'eau, est déféqué à fond. La liqueur obtenue dévie de $+0^\circ 44'$ et présente tous les caractères observés sur le résidu correspondant de la liqueur L_2 .

Hydrolyse par 2 % SO^4H^2				
	Temps	$\alpha_{1=2}$	Réducteur %	$[\alpha_D]$
100°	0	$+0^\circ 44'$	—	—
	30 m.	$+0^\circ 38'$	0,140	
	1 h.	$+0^\circ 16'$	0,400	
120°	1 h. 30	$+0^\circ 26'$	0,450	53
	2 h.	$+0^\circ 30'$	0,475	

CHAPITRE III

EXTRAITS AQUEUX

GOMME DE NOSTOC COMMUNE

RECHERCHE DU GLYCOGÈNE

Les Nostocs, dont on a extrait les glucides par l'alcool, sont traités par l'eau bouillante.

Ils abandonnent une gomme épaisse, visqueuse, qui précipite par le sous-acétate de plomb et coagule par l'alcool.

Mise en solution très étendue, on peut la filtrer et déterminer son signe optique : la gomme de Nostocs est dextrogyre.

I. — ACTION DES ACIDES

La gomme précipitée par l'alcool est traitée par 1 % d'acide sulfurique. Au bain-marie à 100°, on peut suivre la déviation qui décroît, tandis que le réducteur augmente. Après deux heures, l'opération s'arrête; à ce moment, le pouvoir rotatoire des produits formés est de +19°.

En utilisant l'autoclave à 120° sans augmentation du pourcentage d'acide, la transformation continue, mais la déviation croît en même temps que le réducteur. Le pouvoir rotatoire se fixe à +45°.

	Temps	α 1 = 2	Réducteur %	α_D
Bain-marie 100°	0	lect. impr.	—	
	30 m.	+0°20'	—	
	1 h.	+0°18'	0,300	
	1 h. 30	+0°14'	0,450	
	2 h.	+0°12'	0,575	19
Autoclave 120°	2 h. 30	+0°28'	0,775	
	3 h.	+0°30'	0,825	
	3 h. 30	+0°40'	0,880	
	4 h.	+0°46'	0,950	45

L'opération très lente avec 1 % d'acide s'effectue en deux heures à 120°, par 2 % d'acide.

II. — ESSAI DE FRACTIONNEMENT DE LA GOMME

L'arrêt de la transformation, après deux heures à 100°, indique peut-être une étape que l'on pourrait utiliser pour préciser la nature de la gomme.

On reprend l'expérience sur 45 gr. de gomme dissoute dans 500 cm³ SO⁴H² 2 %

L'opération est amenée à son terme en utilisant le bain-marie.

En 1 h. 30 à 100°...	+0°20'	[α_D]=+19°
	+0°14'	
	+0°12'	

1° Le liquide acide est additionné de deux volumes d'alcool absolu, dans le but de précipiter les substances non encore transformées (gomme brute).

Le précipité obtenu est exclusivement minéral.

2° On chasse l'alcool, on neutralise à la baryte en milieu très dilué. La concentration étant opérée sous vide, on précipite à nouveau par l'alcool absolu. Si l'hydrolyse a libéré des acides uroniques, ceux-ci, qui sont passés à l'état d'uronates de baryum, doivent précipiter par l'alcool.

Après quarante-huit heures de repos, on ne recueille qu'un très faible précipité en grande partie insoluble dans l'eau; la solution ne donne aucune déviation.

Les opérations précédentes n'ont opéré aucun fractionnement.

3° Le filtrat alcoolique distillé, le résidu a un pouvoir rotatoire de +22°.

$$\alpha = +1^{\circ}4' \quad R \% = 2,4 \quad [\alpha_D] = +22^{\circ}$$

Ce résidu, traité à 120° par 2 % d'acide sulfurique, redonne les caractères observés dans l'hydrolyse de la gomme brute.

La déviation croît en même temps que le réducteur, le pouvoir rotatoire est de +45°.

	Temps	α 1 = 2	Réducteur %	$[\alpha_D]$
A 120°	0	+1°4'	2,4	22
	30 m.	+2°12'	2,975	37
	1 h.	+2°42'	3	
	1 h. 30	+2°46'	3,2	
	2 h.	+2°52'	3,2	45

La gomme s'hydrolyse régulièrement.

III. — IDENTIFICATION DES PRODUITS FORMÉS

La liqueur d'hydrolyse, dont le pouvoir rotatoire est de $+45^\circ$, est neutralisée à la baryte et concentrée.

a) Elle donne, avec l'alcool absolu, un précipité qui, traité au bain-marie bouillant par la naphtorésorcine en milieu chlorhydrique, fournit une rapide et très intense réaction :

Après quinze minutes à 100° , le liquide prend une fluorescence verte, puis il se forme un précipité bleu indigo, qui, recueilli, se dissout dans l'éther en une belle liqueur violette. La solution étherée évaporée, le résidu bleu très intense se redissout dans le chloroforme et le benzène.

La gomme de Nostocs contient, comme les gommages des Cyanophycées déjà étudiées, un noyau uronique.

b) La solution, débarrassée des acides uroniques par plusieurs précipitations par l'alcool, a un pouvoir rotatoire de $+53^\circ$.

Traité par l'acétate de phénylhydrazine, elle donne une abondante osazone que l'on identifie à l'arabinosazone.

CONCLUSION

Il n'est pas possible, d'après les recherches succinctes qui ont été effectuées, de donner une composition précise de la gomme de Nostocs. On peut admettre qu'elle est constituée par des acides uroniques accompagnés de sucres, dont l'un est probablement l'arabinose.

IV. — RECHERCHE DU GLYCOGÈNE

Les cellules de *Nostoc commune* prennent, sous l'influence de l'iode, une teinte jaune vif. Les auteurs, qui se sont intéressés à la

morphologie des Cyanophycées, ont signalé la présence du glycogène en se basant sur cette coloration.

En particulier, les Nostocs sont désignés comme contenant ce glucide; il paraissait intéressant de chercher à l'extraire.

Les gommes extraites par l'eau bouillante ne prennent aucune coloration avec l'iode, même lorsqu'on les concentre.

Elles ne subissent aucune variation sous l'influence de la pancréatine Choay, très active sur le glycogène.

On peut admettre que le glycogène est resté dans la cellule, les filaments ne sont pas désorganisés et les cellules prennent la coloration déjà indiquée.

On traite alors les algues par la potasse à 5 % pendant une heure, à l'ébullition.

Le liquide brun, très visqueux, est additionné d'alcool absolu; le glycogène, s'il existe, a dû passer dans cet extrait alcalin et doit précipiter en même temps que la gomme.

Le précipité obtenu, traité par 2 % SO^4H^2 , donne exclusivement les produits d'hydrolyse de la gomme déjà étudiée.

	Temps	α 1 = 2	Réducteur %	$[\alpha_D]$
A 100°	0	+0°26'	—	
	30 m.	+0°14'	0,325	
	1 h.	+0°12'	0,400	
A 120°	1 h. 30	+0°22'	0,500	
	2 h.	+0°28'	—	
	2 h. 30	+0°34'	0,700	46

Une hydrolyse faite sur une liqueur non précipitée par l'alcool a donné les mêmes résultats.

Dans aucun cas on n'a obtenu l'osazone du glucose.

Les expériences précédentes n'ont pas montré l'existence du glycogène. La présence de ce glucide n'est pas impossible, elle n'est peut-être que temporaire; il s'agit de rechercher cette présence en suivant le développement de la plante.

Les échantillons étudiés n'étaient pas sporulés, la formation des spores détermine peut-être l'apparition de ce glucide.

CHAPITRE IV

ETUDE DE SCYTONEMA TOLYPOTRICHOIDES

ET

D'APHANOTECE STAGNINA

Il m'a paru intéressant de signaler quelques observations effectuées sur deux Cyanophycées vivant dans les eaux douces stagnantes.

I. — SCYTONEMA TOLYPOTRICHOIDES

Cette algue, recueillie dans les marais de Lessay, se rapproche beaucoup des espèces déjà étudiées. Le genre *Scytonema* appartient à la série des *Anhomocystea*, famille des *Scytonémacées*; il groupe des espèces nombreuses à aspect très varié, et dont le coloris va du vert olivâtre au jaune et au brun rouille. Certaines espèces se développent sur la terre humide (*S. stuposum*, *S. ocellatum*), sur les rochers au voisinage des cascades, auprès des sources thermales (*S. mirabile*), d'autres flottent dans les ruisseaux, dans les étangs.

Scytonema tolypotrichoides montre ses touffes globuleuses de couleur jaune rouille, à la surface de l'eau, entre les plantes aquatiques. Les filaments, épais de 10 à 15 μ , sont disposés radialement autour du milieu de la touffe; ils ne contiennent qu'un trichome dans chaque gaine. Ces trichomes, non terminés par un poil, de même épaisseur dans toute leur étendue, différencient les *Scytonémacées* des *Rivulariacées*, tandis que la présence d'hétérocystes basilaires les sépare des *Nostocacées*.

L'aspect pseudorameux des filaments de *S. tolypotrichoides* est dû à la présence des rameaux géminés qui naissent entre les hétérocystes, quelquefois sous ces mêmes hétérocystes.

Si l'on soumet l'algue à l'action de l'eau iodée, on voit le trichome se teinter de jaune, la gaine restant incolore; l'adjonction d'une goutte d'acide sulfurique concentré détermine une coloration plus accentuée du trichome, qui passe au jaune orangé tandis que la gaine prend une teinte gris verdâtre.

Ces réactions ne permettent pas de conclure à la présence de glycogène dans la cellule et de cellulose dans la gaine. Les recherches effectuées par GOMONT (37) sur d'autres espèces de *Scytonema* (*S. myochrous*, *S. cincinnatum*) ont amené cet auteur à penser que ces algues renfermaient une cellulose différente de celle des plantes supérieures, et LEMAIRE (42), en étudiant les mêmes espèces, indique que la cellulose y est alliée à de la shizophycose, combinaison insoluble dans la liqueur de Schweitzer.

Les algues, sitôt récoltées et essorées, sont fixées à l'alcool fort; l'extrait, après distillation de l'alcool, contient non seulement une certaine quantité de gomme, mais des substances lipoidiques qui entravent toute filtration.

Le sous-acétate de plomb et l'acide phosphotungstique provoquent une abondante défécation et l'on obtient une liqueur claire, DEXTROGYRE.

$\alpha = +0^{\circ}20'$ ($l=2$) (100 gr. d'algues fraîches dans 100 cm³ d'eau)

Les dosages, effectués suivant la méthode de G. Bertrand, indiquent la présence de 0 gr. 150 de sucre réducteur pour 100 gr. de poids frais.

La sucrase ne détermine, même après plusieurs jours, aucune transformation, les extraits ne contiennent pas de saccharose.

Sous l'influence de 2 % d'acide sulfurique, les liqueurs déféquées à fond deviennent de plus en plus réductrices : après 1 h. 30 au bain-marie bouillant, le pouvoir rotatoire des produits formés est voisin de -50° , et l'on obtient l'osazone du glucose.

$\alpha = +0^{\circ}24'$ ($l=2$) $R \% = 0,4$ $[\alpha_D] = +50^{\circ}$

Les algues, après plusieurs extractions alcooliques, sont traitées par l'eau bouillante. Elles livrent une gomme *dextrogyre* qui, sous l'action de 2 % d'acide sulfurique, pendant 1 h. 30 à 100° , se transforme en produits réducteurs dont le pouvoir rotatoire est de -25° .

$\alpha = +0^{\circ}18'$ ($l=2$) $R = 0,6 \%$ $[\alpha_D] = +25^{\circ}$

II. — *APHANOTECE STAGNINA* SPRENG.

Aphanotece stagnina, récoltée dans la mare de Vauville, est très différente des algues étudiées précédemment; cette espèce, qui appartient à la série des *Chroococcales*, n'est pas filamenteuse. Elle est constituée par des cellules ovoïdes de 3 à 5 μ , qui sont groupées sans ordre dans un mucus homogène; l'ensemble a l'aspect d'une masse globuleuse vert clair pouvant atteindre plus de un centimètre.

L'algue récoltée ne s'essore que difficilement, on ne peut la presser sans l'écraser et disséminer cellules et gomme. On a donc, pour le transport, placé la récolte simplement égouttée, sous alcool fort; une coagulation de la gomme s'est produite et l'ensemble a donné une masse semi-solide infiltrable.

Au laboratoire, on a desséché toute la récolte, d'abord à la température de 20° sous air comprimé, puis dans le dessiccateur à vide.

540 gr. de poids frais ont donné 3 gr.06 à 20° et 2 gr.28 sous vide.

La proportion de matière sèche, dans ces algues, est inférieure à 1 %.

Le produit sec (cellules et gomme) est traité par l'alcool à 85° bouillant; cet extrait, après distillation de l'alcool, est *dextrogyre* et *faiblement réducteur*.

100 gr. de substance sèche renferment 1 gr. 2 de sucre réducteur. Dans 100 gr. de poids frais, le pourcentage serait de l'ordre de 0,01.

La solution déféquée au sous-acétate de plomb, puis à l'acide phosphotungstique, conserve sa rotation positive.

$$\alpha = +0^{\circ}20' \qquad \alpha = +0^{\circ}40' (l=2)$$

Elle ne contient pas de saccharose, il semble donc que la déviation puisse être attribuée à la présence d'un glucide positif.

Par action de l'acide sulfurique à 2 % (à 100°), il apparaît une certaine quantité de sucre réducteur, mais le peu de substance dont on dispose ne permet pas de suivre l'hydrolyse.

L'algue sèche, qui vient de subir le traitement à l'alcool, est soumise à l'action de l'eau bouillante : la masse se gonfle, se liquéfie. A chaud, on obtient un liquide visqueux d'apparence homogène; à froid, toute la masse se prend en gelée.

Ce produit, qui contient gomme et cellules (que l'on ne peut séparer), est faiblement dextrogyre ($\alpha = +0^{\circ}6' l=2$); traité par

l'acide sulfurique à 2 %, il s'hydrolyse en donnant des produits réducteurs dont le pouvoir spécifique est voisin de $+30^\circ$, et qui fournissent l'osazone du glucose.

$$\begin{array}{lll} \alpha = +0^\circ 12' (l=2) & R \% = 0,4 & [\alpha_D] = +28^\circ \\ \alpha = +0^\circ 10' & R \% = 0,27 & [\alpha_D] = +30^\circ \end{array}$$

Au cours des extractions alcooliques, une petite quantité de gomme a pu être isolée. Cette gomme, débarrassée des cellules, donne, après hydrolyse, les mêmes résultats que ci-dessus.

$$\alpha = +0^\circ 6' (l=2) \quad R \% = 0,17 \quad [\alpha_D] = 30^\circ$$

Ces expériences, effectuées sur une seule et peu abondante récolte, n'ont la valeur que d'une indication; elles seront poursuivies ultérieurement, mais elles permettent cependant de se rendre compte que, malgré de grandes différences dans la forme et dans le genre de vie, il existe entre les différentes Cyanophycées des liens très réels au point de vue biochimique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont porté sur trois espèces voisines de la même série : *Rivularia bullata*, *Calothrix pulvinata*, *Nostoc commune* (Hormogonéales).

Quelques observations ont été en outre effectuées sur deux espèces vivant dans les étangs : *Scytonema tolypotrichoides* (même série que les précédentes) et *Aphanotece stagnina* (Chroococcales).

Il n'est guère possible maintenant de donner une idée générale sur la composition biochimique des Cyanophycées, mais on peut tout au moins constater que, dans une même série, les différentes espèces contiennent : ou un même corps, ou des corps très voisins.

1. Les espèces étudiées ne contiennent que peu de matière sèche, de 5 à 10 %. Elles renferment de fortes proportions de matières minérales, le calcium et le magnésium en étant les métaux dominants.

Rivularia, 30 %; *Calothrix*, 40 %; *Nostoc*, 20 %.

Les algues marines *Rivularia* et *Calothrix* laissent, après incinération, un fort dépôt de silice.

2. L'azote organique atteint, pour 100 gr. de poids sec à 110°, les proportions suivantes :

2,42 % dans *Rivularia bullata*.

1,5 % dans *Calothrix pulvinata*.

2,8 % dans *Nostoc commune*.

La presque totalité de l'azote semble provenir de la gomme qui constitue la gaine des filaments.

3. Le sucre réducteur, dosé suivant la méthode classique de Bertrand, n'atteint que de très faibles proportions; pour 100 gr. de poids frais :

Rivularia, 0,08; *Calothrix*, 0,035; *Nostoc*, 0,07 du poids sec.

Les algues bleues se rapprochent en cela des algues brunes et des algues rouges.

4. Les extraits alcooliques ne contiennent ni polyols ni saccharose en quantité dosable, mais ils contiennent tous, au moins, un glucide hydrolysable.

5. Dans *Rivularia bullata* et dans *Calothrix pulvinata*, on a pu mettre en évidence un principe fortement dextrogyre, qui a été identifié avec le tréhalose.

Ce sucre a été obtenu à l'état cristallisé à partir des extraits de *Rivularia bullata*.

Les algues brunes, les Floridées marines n'en contiennent pas, mais la présence de ce glucide a été signalée dans les Rhodophycées d'eau douce.

6. Les Nostocs présentent une particularité des plus intéressantes.

Certains extraits sont lévogyres; d'autres sont dextrogyres.

Ils semblent renfermer deux corps qui, suivant leurs proportions réciproques, donnent à l'extrait leur signe optique.

Les liqueurs lévogyres se convertissent, par hydrolyse acide, en produits réducteurs dont le pouvoir rotatoire est de $+75^\circ$.

Les solutions dextrogyres, traitées de façon identique, donnent un ensemble de produits dont le pouvoir rotatoire est de $+60^\circ$.

L'identification de ces deux corps n'a pu se faire faute de produits.

7. Les algues traitées par l'eau bouillante abandonnent une substance visqueuse, qui, en solution filtrée, est neutre, non réductrice, nettement dextrogyre.

Ces gommages, sous l'action hydrolysante des acides, donnent toutes naissance à des produits réducteurs, dans lesquels on trouve des acides uroniques et des sucres simples, variables suivant les espèces.

Dans *Rivularia bullata*, le pouvoir rotatoire de l'ensemble des produits réducteurs est de $+58^\circ$.

On trouve de l'arabinose et du glucose.

Dans *Calothrix pulvinata*, le pouvoir rotatoire global est de $+45^\circ$.

On trouve du galactose et probablement du mannose.

Dans *Nostoc commune*, le pouvoir rotatoire est de $+45^\circ$.

On trouve l'arabinose.

Ces gommages se séparent nettement de l'alginate des algues brunes,

qui ne contient que des acides uroniques; elles se rapprochent plutôt des pectines par l'ensemble de leurs constituants; il semble cependant que les gommes de Cyanophycées seraient plutôt formées d'un noyau uronique, auquel viennent se souder différentes molécules de sucres simples.

8. Les cellules des Cyanophycées étudiées prennent, avec l'iode, une coloration jaune orangé, faisant penser à la présence possible du glycogène.

Or, les recherches effectuées en vue de mettre ce glucide en évidence sont restées sans résultat. Les extraits par l'eau bouillante, les extraits par la potasse ne se colorent pas par l'iode, ne subissent pas l'action de l'amylase pancréatique.

Il serait imprudent de conclure cependant à l'absence de glycogène, tant que l'on n'aura pas suivi le développement de ces algues.

Les recherches précédentes montrent tout l'intérêt que peut présenter l'étude plus approfondie et plus généralisée des constituants biochimiques des Cyanophycées.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ALLISON (F.-E.) et MORRIS (H.-J.). — Nitrogen fixation by blue green algae. *Science*, 71, p. 221-223. (1930.)
2. AUGIER (J.). — Constitution et biologie des Rhodophycées d'eau douce. *Thèse, Paris*. (1934.)
3. AUSTERWEIL (G.). — Sur quelques réactions entre zéolithes et sels peu solubles dans l'eau. *C.R. Acad. Sc.* 194, p. 1581. (1932.)
4. BADREAU (J.). — Dosage de la mannite par l'acide arsénieux. *Journ. de Pharm. et Chimie*, 7^e série, t. XXIV, p. 12. (1921.)
5. DE BEAUCHAMP. — Les grèves de Roscoff. *Libr. Sc. Nat. Paris*. (1914.)
6. BERNIER. — Sur la présence de l'acide glycuronique dans l'urine normale. *Thèse Pharm. Paris*. (1910.)
7. BERTRAND (G.) et THOMAS. — Guide pour les manipulations de chimie biologique. *Paris, Dunod*, 3^e éd. (1919.)
8. BIRD et HAAS. — On the nature of the cell wall constituents of *Laminaria*. S.P.P. mannuronic acid. *Biochem. Journ.*, t. XXV, 403. (1931.)
9. BORNET et FLAHAULT. — 1^o Révision des Nostocacées hétérocystées. *Ann. Sc. Nat., série VII*, t. III, IV, VII. (1886.)
— 2^o Tableau synoptique des Nostocacées hétérocystées. *Mém. Soc. Sc. Nat. et Mat. de Cherbourg*.
10. BORNET et THURET. — Notes algologiques. *T. I*, XXV, XXVI. (1887-1889.)
11. BOURQUELOT. — Hydrates de carbone chez les champignons. *Bull. Soc. Mycol.*, t. 5. *Paris*. (1889.)
12. BOURQUELOT. — Ferments solubles. *Paris*. (1896.)
13. BUTLER (C.) et CRETCHER. — The composition of the Gum Arabic. *Journ. of Am. Chem. Soc.*, t. 51, p. 1519. (1929.) *Journ. of Am. Chem. Soc.*, t. 53. (1931.)
14. CHAMBRON. — Acide glycuronique et glycuconjugaison. *Thèse Pharmacie, Lyon*. (1934.)
15. CLAUTRIAU (G.). — 1^o Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures. *Rec. de l'Institut Bot. Bruxelles*, t. I. (1895.)
— 2^o Réserves hydrocarbonées des Thallophytes. *T. I*, (1899.)
16. COLIN (H.). — Les diastases : Hydrolases. *T. I. Paris, Douin*, 1930.
17. COLIN (H.) et AUGIER (J.). — Floridoside, Tréhalose et Glycogène chez les algues rouges d'eau douce (*Lemanea*, *Sacheria*). *C.R. Ac. Sc.*, p. 423. (1933.)

18. COLIN et PAYEN (J.). — Le sucre de *Rivularia bullata*. C. R. Ac. Sc., p. 384. (1934.)
19. CRETCHER et NELSON (W.-L.). — A new type of acide carbohydrate from Seaweed. Sciences, t. 67, p. 537 (1928.)
20. CRETCHER et BUTLER. — The nature of the acidic substance formed on the hydrolysis of Acacia. Sciences, t. 68, p. 116. (1928.)
21. CZURDA (V.). — Morphologie und Phycologie der Algenstärkekörner. Beihefte. Z. bot. Centralblatt, t. 45, p. 98. (1928.)
22. DANGEARD (P.). — Traité d'Algologie. Paris, Lechevalier. (1933.)
23. DAVY DE VIRVILLE (A.). — Sur la répartition en zone de *Rivularia bullata* BERK. C.R. Ac. Sc., t. CXCI. (1930.)
24. DIÉTRICH. — Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule végétale. Arch. anat. microsc. (1924.)
25. EHRLICH (F.) et REHORST (K.). — Zur Kenntnis der d. Glykuronsäure. Ber. Chem. Ges., t. 58, p. 1989. (1925.)
26. EHRLICH (F.) et SCHUBERT (F.). — Über Tetra Araban und seine Beziehung zur Tetragalakuronsäure dem Hauptkomplex der Pekunstoff. Bioch. Ztschr., 203, 343, 350. (1928.) Ber. Chem. Ges., 63, 1974. (1929.)
27. EHRLICH (F.) et SOMMERFELD (R.-V.). — Die Zusammensetzung der Pektinstoffe der Zuckerrübe. Bioch. Ztschr., t. 168, p. 263. (1926.)
28. ERCEGOVIC (D^r Ante). — Etudes écologiques et sociologiques des Cyanophycées lithophytes de la côte yougoslave de l'Adriatique. Bull. Ac. Yougosl. des Sciences et des Arts. Bull. Sc. Math. et Nat., vol. 26. Zagreb. (1932.)
29. ERRERA. — Epiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles. (1882.) Publiée dans le recueil de l'Institut bot. Univ. de Bruxelles, I. (1906.)
30. FAMIN (A.). — Action de la température sur les végétaux. Thèse. Paris. (1933.)
31. FLAHAULT. — 1° Nostocacées hétérocystées. Bull. Soc. Royale Bot. Belg., t. 27.
— 2° Les Nostocs. Extrait Bull. Soc. Bot., t. 30 (1893.)
32. FRÉMY (P.). — 1° Les Scytonémacées de la France. Revue algol., II, p. 258-279. Rev. algol., III, p. 35 à 98. (1925-1926.)
— 2° Les Stigonémacées de la France. Revue algol., t. V, p. 147.
— 3° Les Myxophycées de l'Afrique équatoriale. Arch. de Bot., t. III, mémoire n° 2. (1930.)
— 4° Les Cyanophycées des côtes d'Europe. Extrait des mémoires de la Sté Nationale des Sc. Nat. et Math. de Cherbourg, t. XLI.
33. GEITLER (D^r Lothar). — Synoptische Darstellung der Cyanophyceen in morphologischer und system. Beihefte. Z. Botanisch Centralblatt. (1925.)
34. GUEGUEN (E.). — Les constituants glucidiques des algues rouges. Thèse de Pharmacie. Paris. (1931.)

35. GUILLIERMOND (A.). — 1° Sur la structure des Beggiatoa et leurs relations avec les Cyanophycées. *C.R. Soc. Biol.* (1926.)
 — 2° Nouvelles recherches sur la structure des Cyanophycées. *R. Gén. Bot.* (1926.)
 — 3° Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. *R. G. Bot.* (1906.)
36. GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.), PLANTEFOL (L.). — *Traité de Cytologie.*
37. GOMONT. — 1° Monographie des Oscillariées. *Annales Soc. Nat. Bot.*, 7^e série. T. XV. (1892.) Tome I (1893.)
 — 2° Recherches sur les enveloppes cellulaires des Nostocacées filamenteuses. *Bull. Soc. Bot.*, t. XXXV. (1888.)
38. HEIDELBERGER (M.) et GOEBEL (W.). — The soluble specific substance of pneumococcus. *Journ. of biol. chem.* (1927.)
39. HEIDELBERGER (M.) et KENDALL (F.-E.). — Ac. aldobionique. *Journ. of biol. chem.*, t. 84, p. 639. (1929.)
40. HERVIEUX. — Recherches biochimiques sur l'indol et l'acide glycuronique. *Thèse Sciences. Paris.* (1908.)
41. LEFÈVRE et TOLLENS. — Untersuchungen über die Glucuronsäure ihre quantitative Bestimmung und ihre Farbenreaktionen. *Ber. Chem. Ges.*, t. 40, p. 4513. (1907.)
42. LEMAIRE (A.). — Recherches microchimiques sur la gaine de quelques Schizophycées. *Extrait du Journal de Bot.*, t. XV, n^{os} 8-9-10. (1901.)
43. LINK. — Crystalline d. mannuronic acid. *Sciences*, 76, p. 396. (1932.)
44. LINK et DICKSON. — The preparation of d. galacturonic acid from lemon pectic. *Journ. of Biol. chem.*, 86, p. 491. (1930.)
45. LINK et NEDDEN. — Improvements in the preparation of d. galacturonic acid. *Journ. of Biol. chem.*, 94-307. (1931.)
46. MANGENOT (G.). — Recherches sur les constituants morphologiques des algues. *Arch. morphol. génér. et expér.* (1922.)
47. MANGIN. — Sur la constitution de la membrane des végétaux. *C.R. Ac. Sc. Paris.* (Juillet 1888 et octobre 1889.) *Bull. Soc. Bot.*, t. XLI. (1894.)
48. MANSKE. — Présence de mannose dans les algues marines. *Journ. Biol. Chem.* T. 86, p. 571. (1930.)
49. NANJI (D.-R.), PATON (F.-J.), LING (A.-R.). — Dosage volumétrique du gaz carbonique. *Journ. of Chem. Soc. Ind.*, t. 44, p. 253 (8 T). (1925.)
50. NELSON et CRETCHER. — The alginic acid from macrocystis pyrifera. *Journ. of Amer. Chem. Soc.*, t. 51, p. 1914. (1929.) *Id.*, t. 52, p. 2130. (1930.) *Id.*, t. 54, p. 3409. (1932.)
51. NEUBERG et KOBEL. — Über die Ausführung der Reaktion von Alduronsäuren mit naphthoresorcin. *Bioch. Z.*, t. 243, p. 435. (1931.)
52. NOEGELI (C.). — *Die Stärkekörner.* Zurich. (1858.)

53. OBATON. — Evolution du mannitol chez les végétaux. *R. G. Bot.*, t. 41. (1929.)
54. QUICK. — A method for the quantitative determination of menthol glycuronic acid in urine. *Journ. of biol. chem.*, t. 61, p. 668. (1924.)
55. REHORST (K.). — Über das Saponin der Zuckerrübe. *Ber. chem. Ges.*, t. 62, p. 519 (1929.)
56. RICARD (P.). — Constituants glucidiques des algues brunes. *Ann. Inst. Océano.* (1930.)
57. ROCHE. — 1° Essai sur la Biochimie générale et comparée des pigments respiratoires. *Thèse.* (1936.)
2° Notes sur les pigments des algues rouges et bleues. *Arch. de Phys. Biol.*
58. SANDS (L.) et KLAAS (R.). — Cholla Gum. *Chem. Abs. July.* (1929.)
59. SAUVAGEAU. — Réflexions sur les analyses chimiques des algues. *Rev. G. Sciences*, t. 29, p. 541. (1918.)
60. SCHMIDT (E.) et VOCKE (E.). — Zur Kenntnis' der Polyglykuronsäuren. *Ber. Chem. Ges.*, t. 59, p. 1585. (1926.)
61. SCHOEFFEL et LINK. — Isolation of α and β d. mannuronic acid. *Journ. biol. chem.*, t. XCV, p. 213. (1932.) *T. 100*, p. 397. (1933.)
62. SUTRA. — Dégénération de l'amidon par l'action de l'acide phosphorique. *C.R. Ac. Sc.* (Mai 1934.)
63. TEODORESCO. — Sur la présence d'une phycoérythrine dans le Nostoc commun. *R. G. Bot.* 32, p. 145. (1920.)
64. THURET. — Reproduction et observations sur quelques Nostocacées de Cherbourg. (1857.)
65. TOLLENS. — Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure mittels Naphtoresorcin salzsäure und Ather. *Ber. Gem. Ges.*, t. 41, p. 1788. (1908.) *Ztsch. für physiol. chem.*, t. 56, p. 115. (1908.)
66. TOLLENS et RORIVE. — Über Farben und Spektralreaktionen der Zuckerarten mit naphtoresorcin und salzsäure. *Ber. Chem. Ges.*, t. 41, p. 1783. (1908.)
67. TURNER. — Chemical composition of *Oscillaria prolifera*. *Journ. Ann. Chem. Soc.* V. 38. (1916.)
68. WIENMANN. — Darstellung von d. Glykuronsäure aus arabischem Gummi. *F. Ber. Chem. Ges.*, t. 62, p. 1637. (1929.) *F. Bioch. Z.*, t. 236, p. 87. (1931.)

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
I. Historique	1
II. Caractères généraux des Cyanophycées	4
III. Récolte du matériel	7

I^{re} PARTIE

ETUDE DE *RIVULARIA BULLATA* (POIRET) BERKELEY

GÉNÉRALITÉS	12
CHAPITRE I. — Quelques données sur la composition minérale.....	14
CHAPITRE II. — Extraits alcooliques : glucides.....	17
I. — Fixation	17
II. — Propriétés du liquide	17
III. — Recherche des substances contenues dans les extraits alcooliques	19
IV. — Préparation du principe sucré à l'état pur.....	22
CHAPITRE III. — Extraits aqueux : gomme de <i>Rivularia bullata</i>	24
I. — Propriétés du liquide	24
II. — Etude des cendres	25
III. — Teneur en azote	26
IV. — Purification de la gomme	26
V. — Hydrolyse acide de la gomme.....	27
VI. — Identification des produits d'hydrolyse.....	28
VII. — Recherche de la nature des acides uroniques.....	33
VIII. — Fractionnement de la gomme	38
CHAPITRE IV. — Recherche du glycogène. Autolysat.....	40

II^e PARTIEETUDE DE *CALOTHRIX PULVINATA* AG.

GÉNÉRALITÉS	46
CHAPITRE I. — Préparation des algues. Données minérales.....	48
CHAPITRE II. — Extraits alcooliques : glucides.....	51
I. — Préparation du liquide à étudier.....	51
II. — Recherche des substances contenues dans les extraits alcooliques	52
CHAPITRE III. — Extraits aqueux : gomme de <i>Calothrix pulvinata</i> Recherche du glycogène	57
I. — Propriétés du liquide	57
II. — Etude des cendres	57
III. — Teneur en azote	58
IV. — Purification de la gomme	58
V. — Action des acides	59
VI. — Identification des produits formés	60
VII. — Fractionnement de la gomme	62
VIII. — Recherche du glycogène	64

III^e PARTIE

ETUDE SOMMAIRE DE *NOSTOC COMMUNE* VAUCHER
ET OBSERVATIONS SUR DEUX CYANOPHYCÉES D'EAU
DOUCE

CHAPITRE I. — Généralités et données minérales.....	67
CHAPITRE II. — Extraits alcooliques : glucides.....	71
I. — Liquides de fixation	71
A) Propriétés générales	71
B) Etude d'une liqueur Lévogyre L_1	72
C) Etude d'une liqueur Dextrogyre L_2	74

II. — Extraits par l'alcool à 85°	76
III. — Interprétation des résultats	77
IV. — Vérification	79
CHAPITRE III. — Extraits aqueux : gomme de <i>Nostoc commune</i>. Recherche du glycogène	81
I. — Action des acides	81
II. — Essai de fractionnement de la gomme	82
III. Identification des produits formés	83
IV. — Recherche du glycogène	83
CHAPITRE IV. — Etude de <i>Scytonema tolypotrichoides</i> et d'<i>Aphanotece stagnina</i>	85
CONCLUSIONS	89
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	92



DEUXIÈME THÈSE

Les pigments des algues et leur rôle biologique.

Vu et approuvé :

Paris, le 23 juillet 1937.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Ch. MAURAIN.

Vu
et Permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie
de Paris,
S. CHARLÉTY.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. I.



Rochers de Saint-Malo avec *Rivularia bullata* (POIRET) formant zone
au-dessus des *Fucus vesiculosus*.

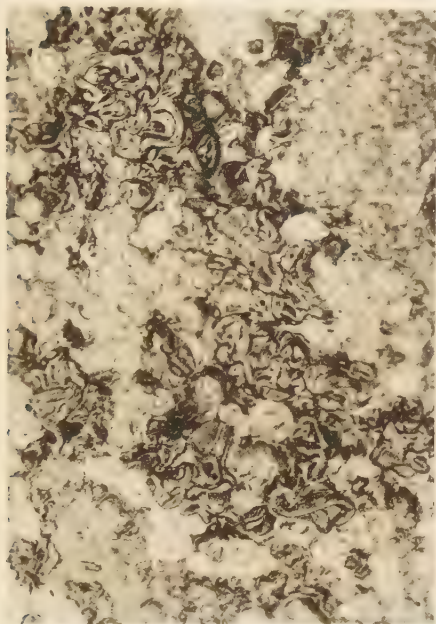


J. PAYEN et R. LAMI, Phot.

BOUAN, Imp.

Rivularia bullata parmi *Lichina pygmaea* (gross. 2 fois environ).

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. II



Rivularia bullata sur rochers
à Chtamales.
(Algues encore humides).



Rivularia bullata
Mêmes échantillons après une heure
d'émersion.



RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. III

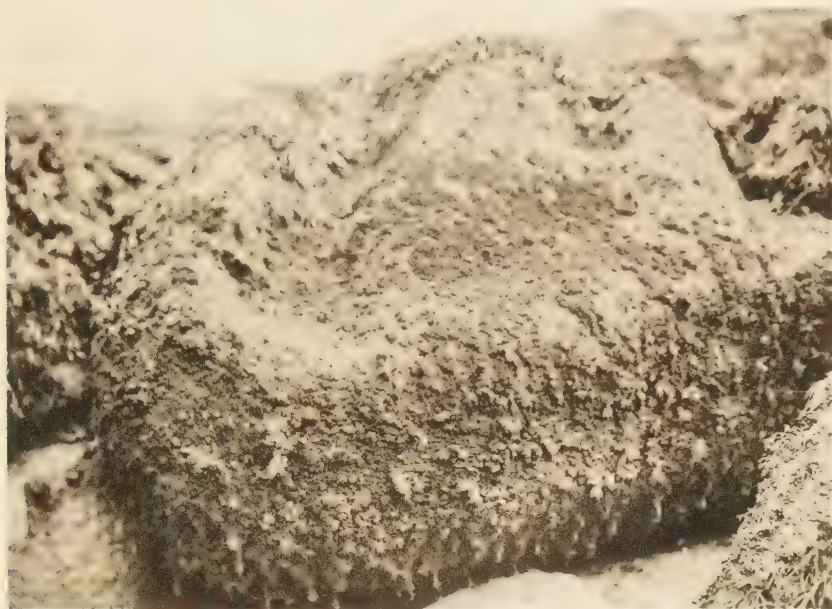


D'après des dessins originaux de E. BORNET.

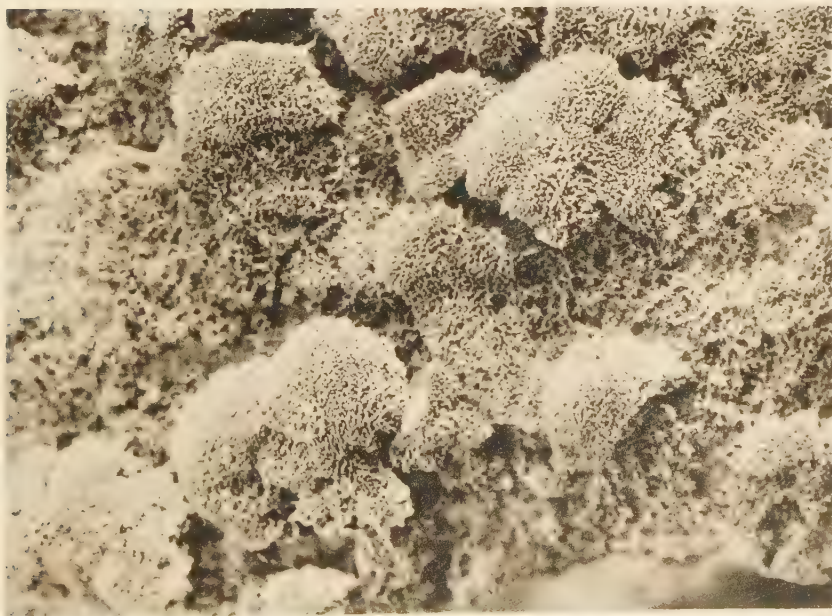
BOUAN, Imp.

Rivularia bullata. — Disposition radiale des trichomes. — Différentes étapes du développement montrant la partie centrale évidée et remplie de gaz (Gr. 12 — 160 — 300).

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. IV.



Calothrix pulvinata sur des roches aux Iles Chausey.

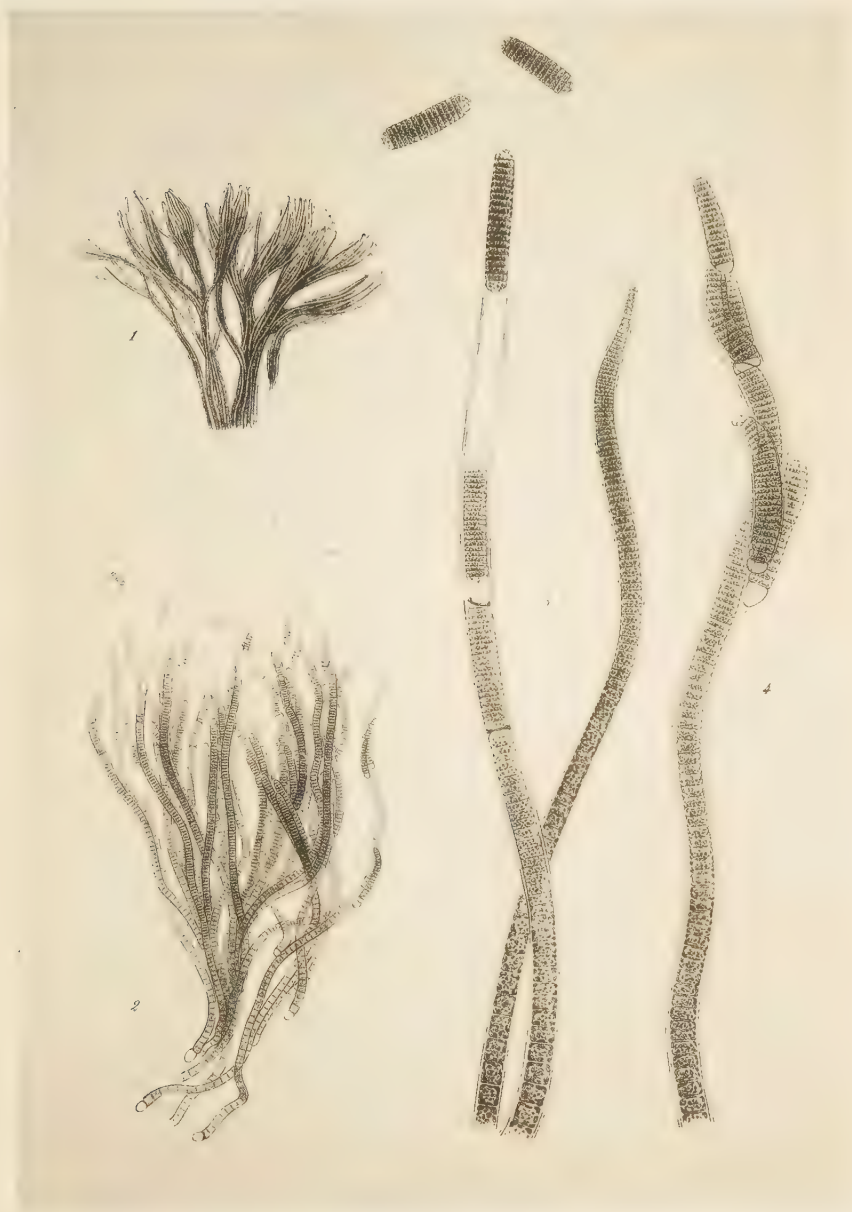


J. PAYEN et R. LAMI, Phot.

BOUAN, Imp.

Coussinets de *Calothrix pulvinata* (Grandeur naturelle).

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. V.



D'après des dessins originaux de E. BORNET.

BOUAN, Imp.

Calothrix pulvinata. — Trichomes avec hétérocystes. — Formation des hormogonies.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. VI.



Nostoc commune. — Thalles isolés (Grandeur naturelle).



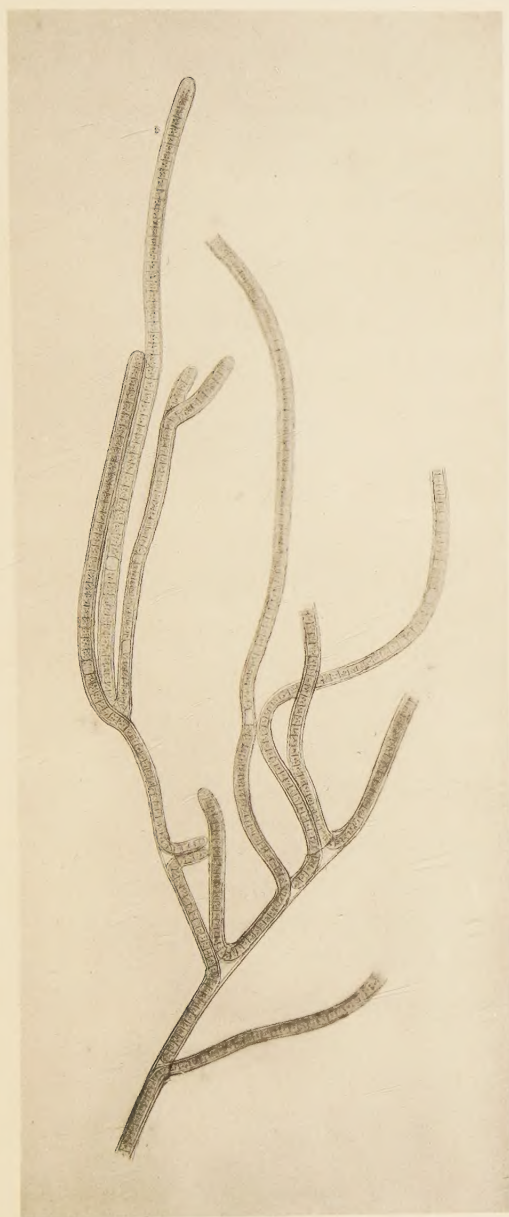
J. PAYEN et R. LAMI, Phot.

BOUAN, Imp.

Nostoc commune. — Trichomes avec hétérocystes intercalaires.

D'après un dessin original de E. BORNET.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES CYANOPHYCÉES. — Pl. VII.



D'après des dessins originaux de E. BORNET.

Scytonema tolypotrichoides.
Trichome ramifié.
(Gross. 150 diam.).



BOUAN, Imp.

Rivularia bullata. — Phases diverses
de la multiplication des filaments.
(Gross. 300 f.)

